

# Základy klinické cytogenetiky – chromosomy

Hanáková M.



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno

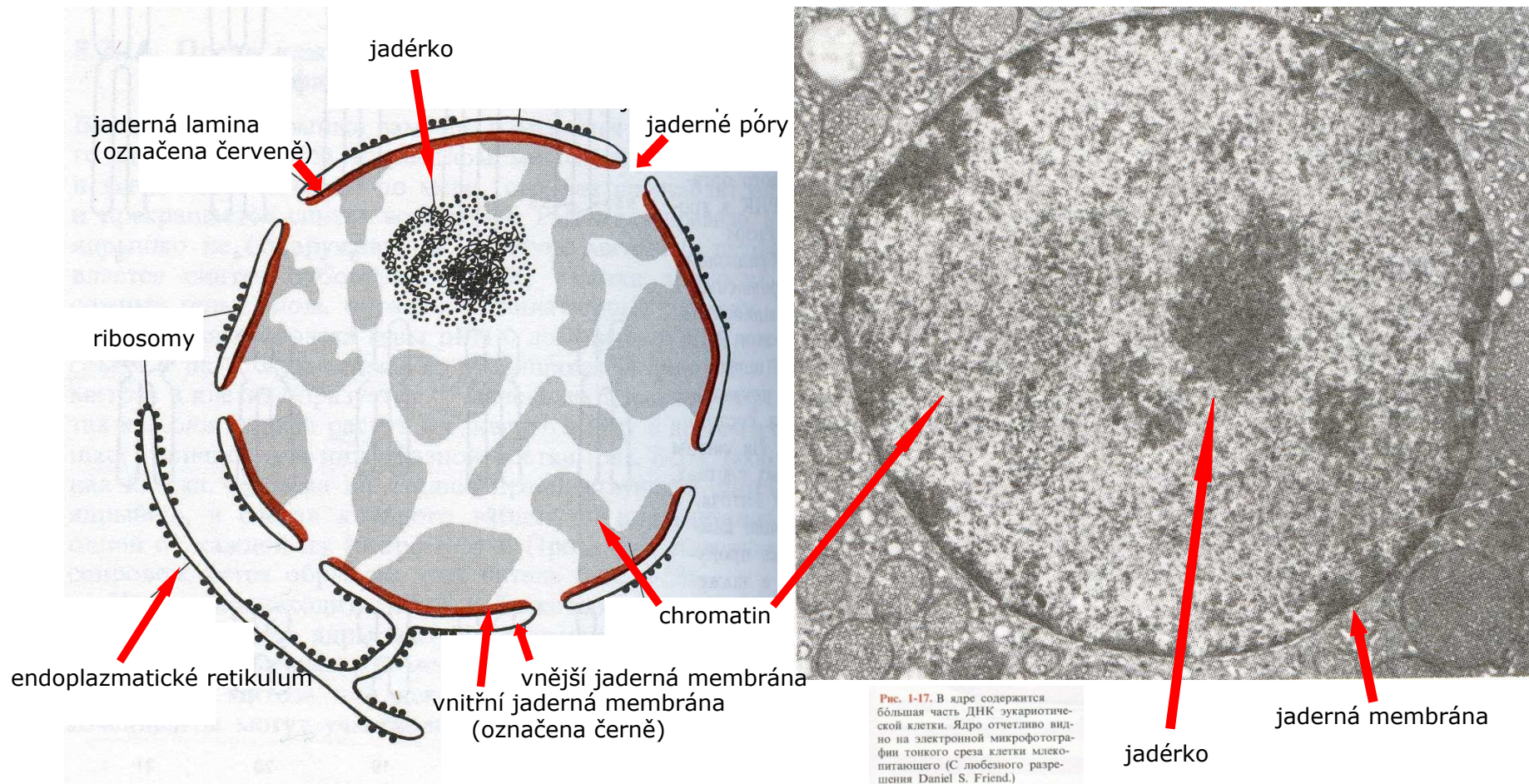


# DEFINICE A HISTORIE

- **klinická cytogenetika** se zabývá analýzou **chromosomů** (jejich počtem a morfologií), jejich segregací v meióze a mitóze a vztahem mezi nálezy chromosomových aberací a fenotypovými projevy.
- **vznik moderní lidské cytogenetiky** se datuje od roku 1956, kdy Tjio a Levan vyvinuli efektivní metodiky analýzy chromosomů a stanovili, že normální počet lidských chromosomů je 46.



# BUNĚČNÉ JÁDRO

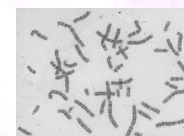
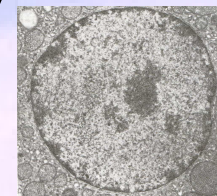


# JADERNÝ MATERIÁL

pojmy **chromatin** a **chromosomy** - týkají se téhož jaderného materiálu, odlišnost ve stupni spiralizace v závislosti na fázi buněčného cyklu

- **chromatin** – komplex DNA s chromosomovými proteiny a RNA (pojem používaný pro **interfázi** buněčného cyklu)

- **chromosom** – chromatin spiralizovaný **v mitóze**



- **chromatida** = 1 kontinuální molekula dvouvláknové DNA ve vazbě s chromosomovými proteiny (spiralizovaná **v mitóze**)



Jestliže chceme vysledovat osud chromatid chromosomu v interfázi, hovoříme o "chromatidách" i v despiralizované podobě. **Chromosom se skládá z 1 nebo 2 chromatid** (v různých fázích spiralizace) v závislosti na fázi buněčného cyklu.

# CHROMATIN

- **euchromatin** - dekondenzovaná forma chromatinu
  - transkripčně aktivní chromatin (přepis genů do RNA)
- **heterochromatin** - kondenzovaná forma chromatinu
  - transkripčně inaktivní chromatin (ale replikace probíhá)

## **konstitutivní heterochromatin**

- zůstává v kondenzovaném stavu a nepřepisuje se do RNA v průběhu celého buněčného cyklu ve všech buňkách a ve všech vývojových stádiích organismu
- transkripčně trvale inaktivní
- **centromery**, - **chromocentra** = oblasti konstitutivního heterochromatinu v interfázi

## **fakultativní heterochromatin**

- může přecházet ze stavu heterochromatinu do stavu euchromatinu
- 1 z chromosomů **X** v buňkách **samic savců** je tvořen euchromatinem, 2. heterochromatinem. Na počátku vývoje jedince byly oba euchromatinové, v rané fázi embryogeneze došlo k inaktivaci jednoho chromosomu.



# CHROMATIN A CHROMOSOMY BĚHEM BUNĚČNÉHO CYKLU

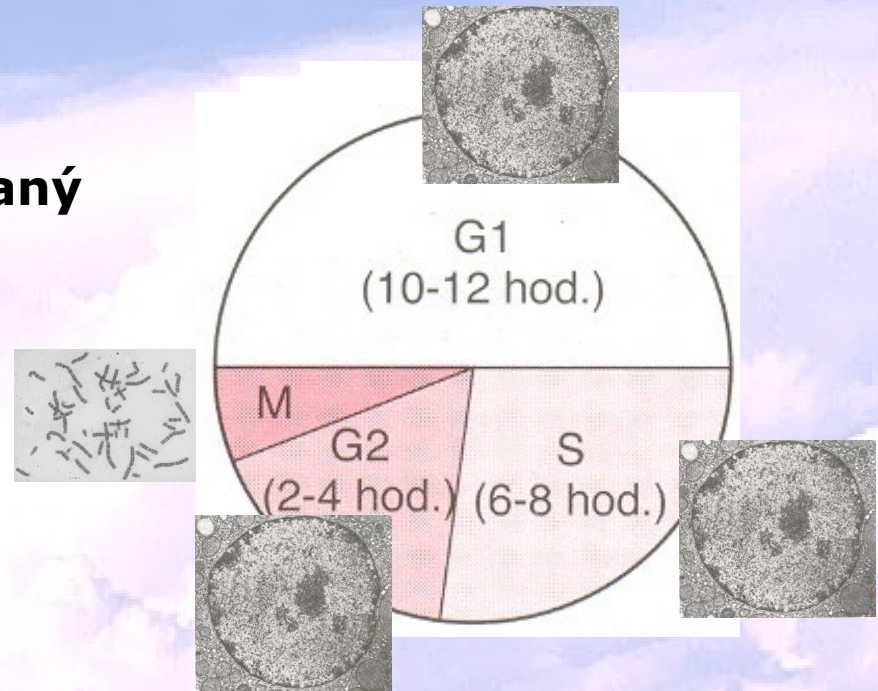
buněčný cyklus **somatických** buněk  
(interfáze + mitóza)

## - **G1, S, G2 fáze = INTERFÁZE**

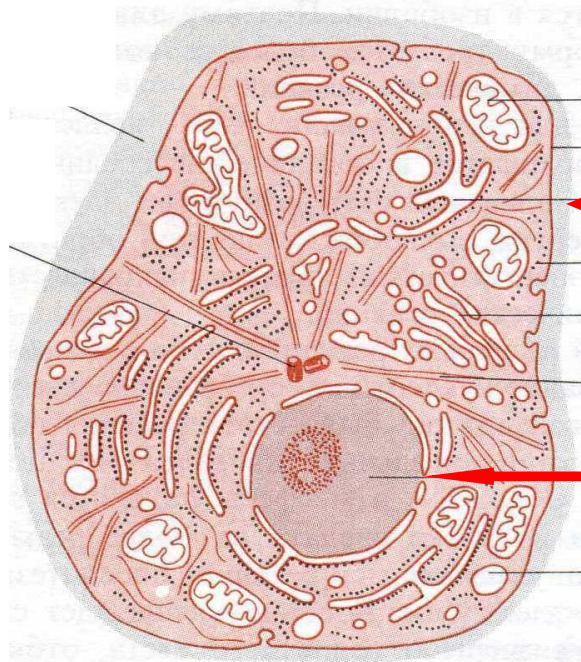
nejdelší fáze buněčného cyklu  
chromatin je **málo kondenzovaný**  
**nebo dekondenzovaný**  
(pouze konstitutivní  
heterochromatin zůstává trvale  
kondenzován)

## - **M fáze = MITÓZA**

buněčné dělení –  
**kondenzace chromatinu**  
vznik chromosomů



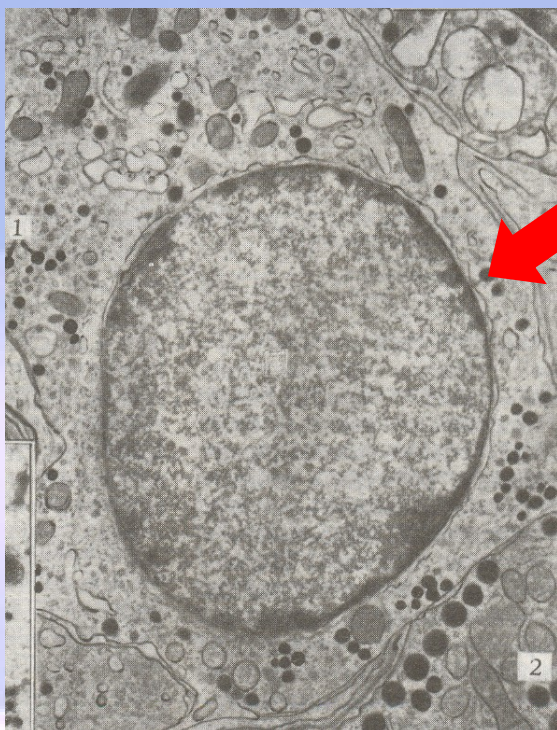
# SCHEMA ŽIVOČIŠNÉ BUŇKY



cytoplasma s organelami

buněčné jádro

# DEFINICE KLINICKÉ CYTOGENETIKY



DNA rozptýlená v buněčném jádře  
(interfáze)



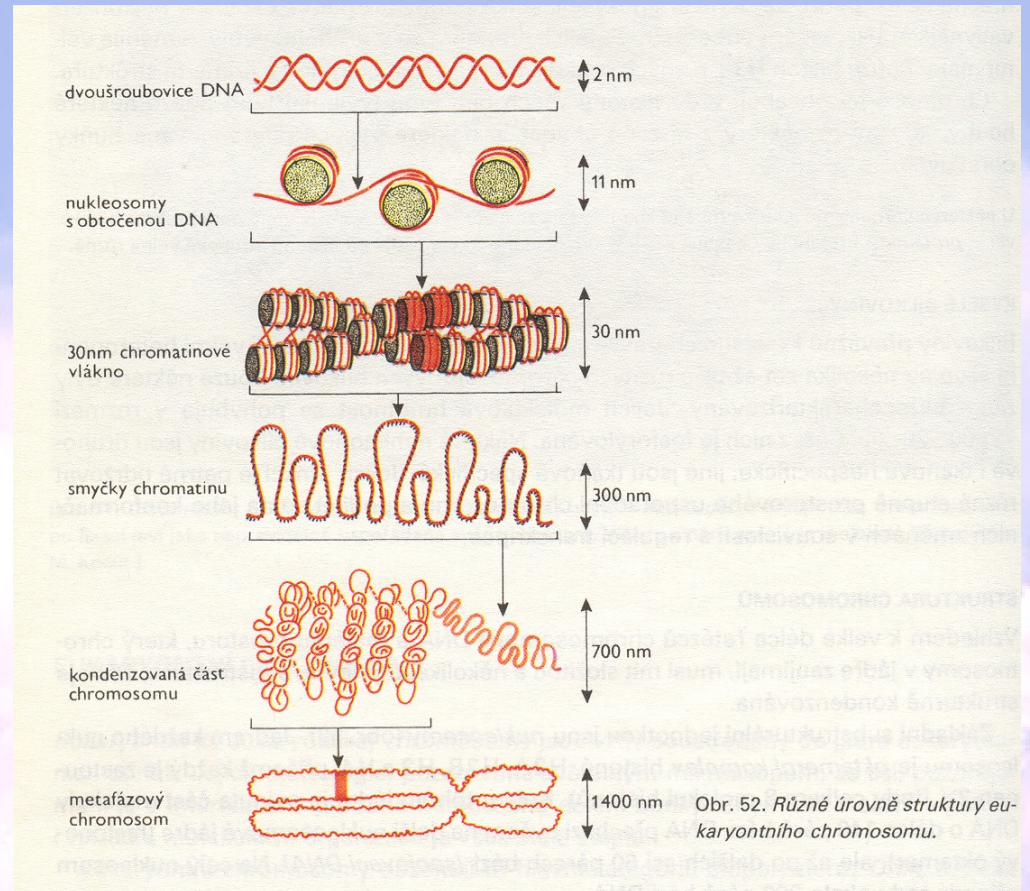
chromosomy = spiralizované molekuly DNA  
počet chromosomů člověka = 46  
(metafáze mitózy)



# CHROMATIN A CHROMOSOMY BĚHEM BUNĚČNÉHO CYKLU

## kondenzace chromatinu, vznik chromosomů

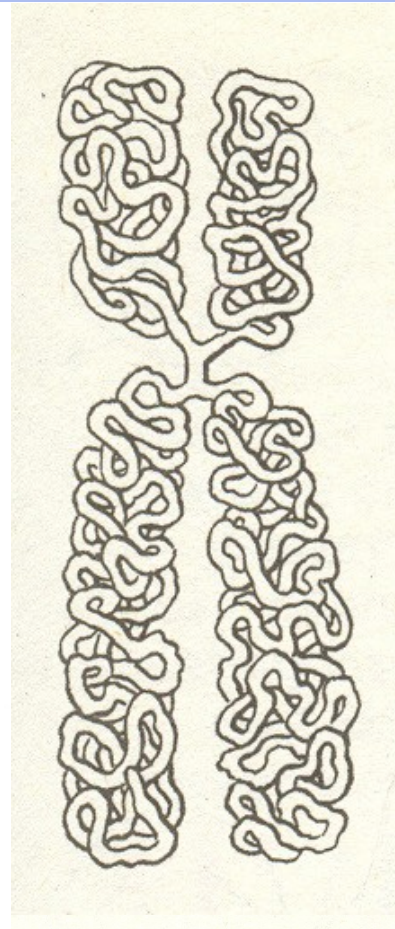
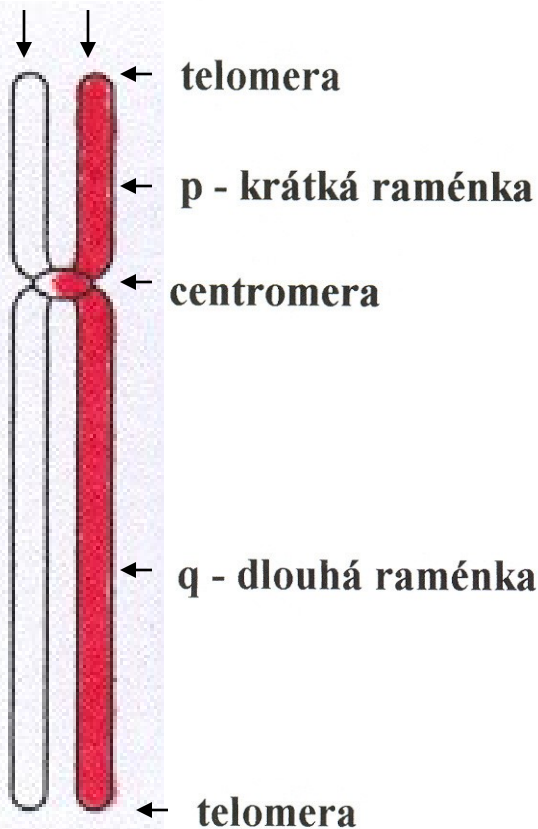
během buněčného cyklu se chromatin nachází v různých fázích spiralizace (v interfázi nízký stupeň spiralizace, během mitózy postupná kondenzace, maximální v metafázi mitózy)



# CHROMOSOM

## tyčinková struktura

sesterské chromatidy  
(identické kopie)



Submikroskopická stavba chromozómu



metafázní chromosom s G – pruhy  
– skládá se ze sesterských  
chromatid přiložených těsně  
k sobě

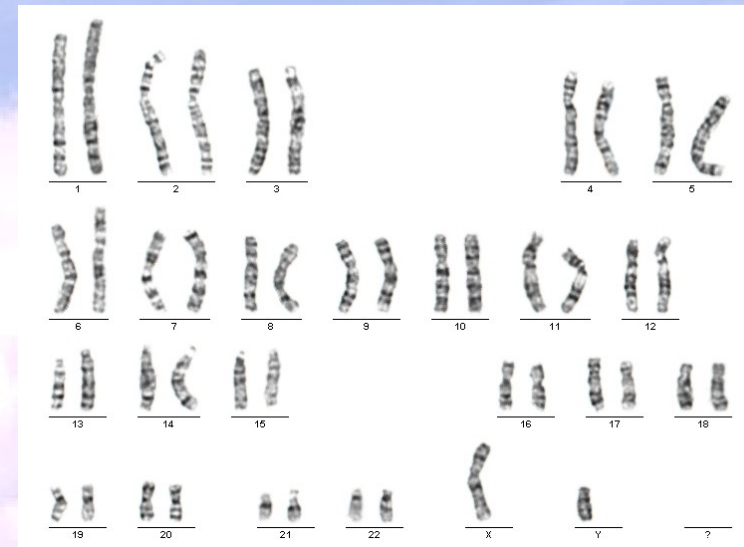
# CHROMOSOM

- **centromera** = heterochromatinová oblast (konstitutivní heterochromatin), místo rozdělení krátkých a dlouhých ramének, místo spojení sesterských chromatid, místo tvorby kinetochorů v meióze a mitóze, (primární konstrikce, zaškrcení)
- **telomera** = specifická DNA sekvence na koncích každého chromosomu (každé chromatidy, dvoušroubovice DNA), která zajišťuje integritu chromosomu během buněčného dělení (repetitivní hexamer (TTAGGG)<sub>n</sub>)

# CHROMOSOMY V PRAXI

## karyotyp

- **soubor chromosomů** jedince nebo buňky s označením jejich **počtu, druhu pohlavních chromosomů** a případných **aberrací** (zápis karyotypu např. 46,XY)
- lidský karyotyp se skládá ze **46 chromosomů**, z toho **22 párů autosomů** (nepohlavních chromosomů) a **2 gonosomů** (pohlavních chromosomů)
- chromosomový pár je tvořen **homologními** chromosomy, z nichž jeden je zděněn od otce a druhý od matky, nepárové chromosomy jsou **nehomologní** (somatické diploidní buňky)



# ZÁPIS KARYOTYPU

46,XX - normální ženský karyotyp

46,XY - normální mužský karyotyp

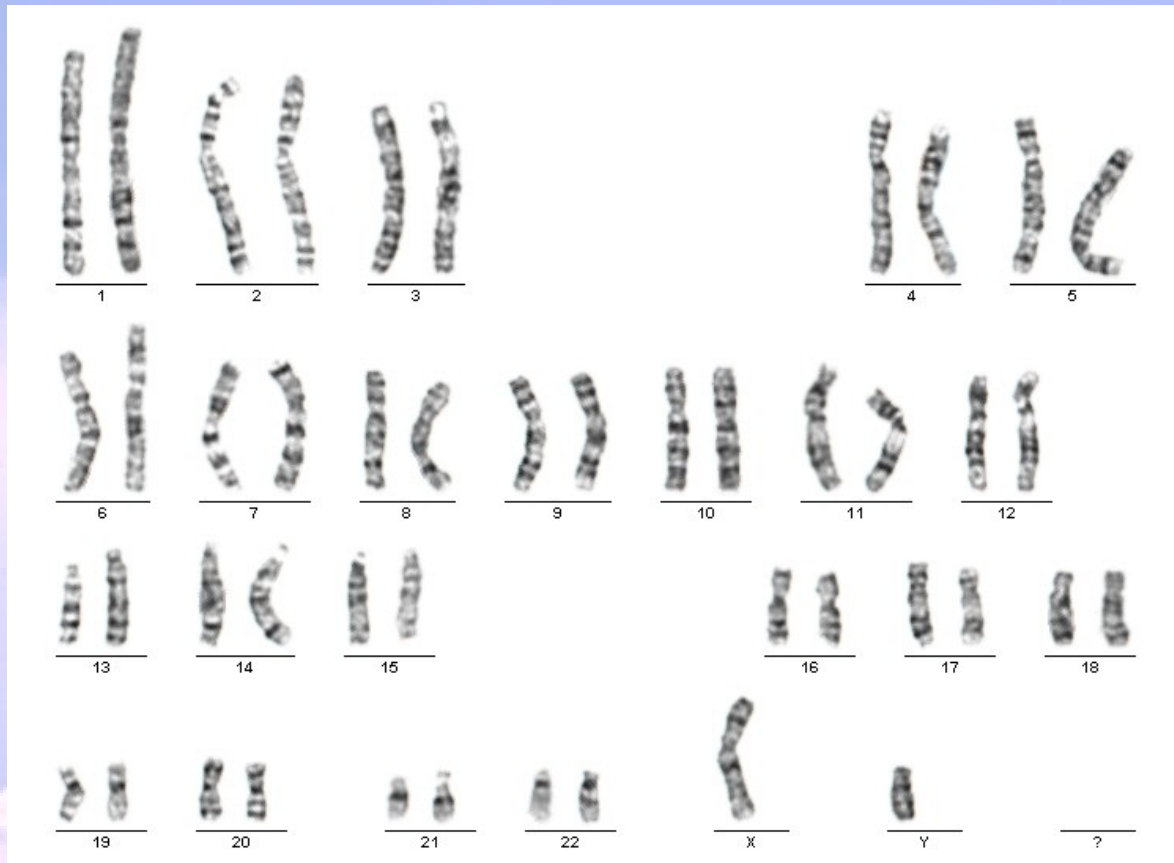
počet chromosomů v jádrech buněk jedince

druh pohlavních chromosomů

# CHROMOSOMY V PRAXI

## normální mužský karyotyp

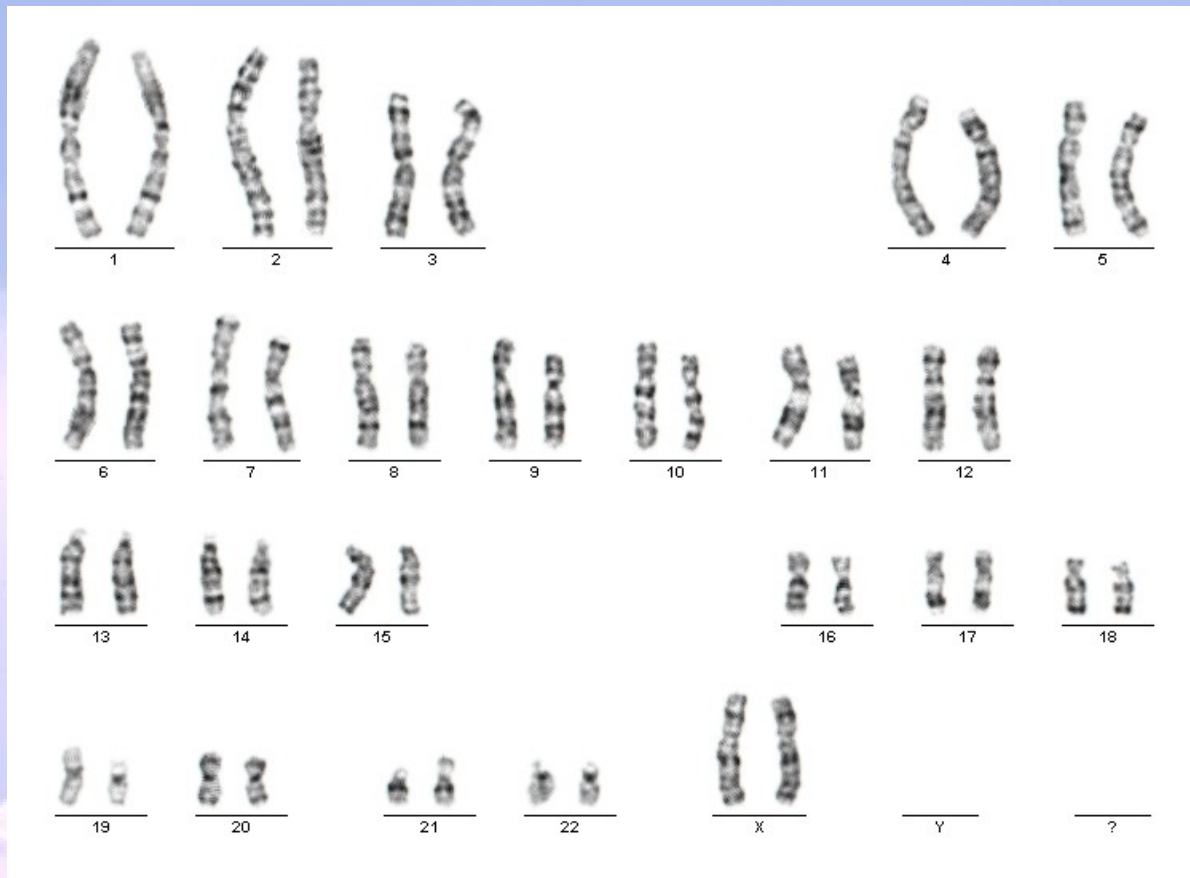
### 46,XY



# CHROMOSOMY V PRAXI

## normální ženský karyotyp

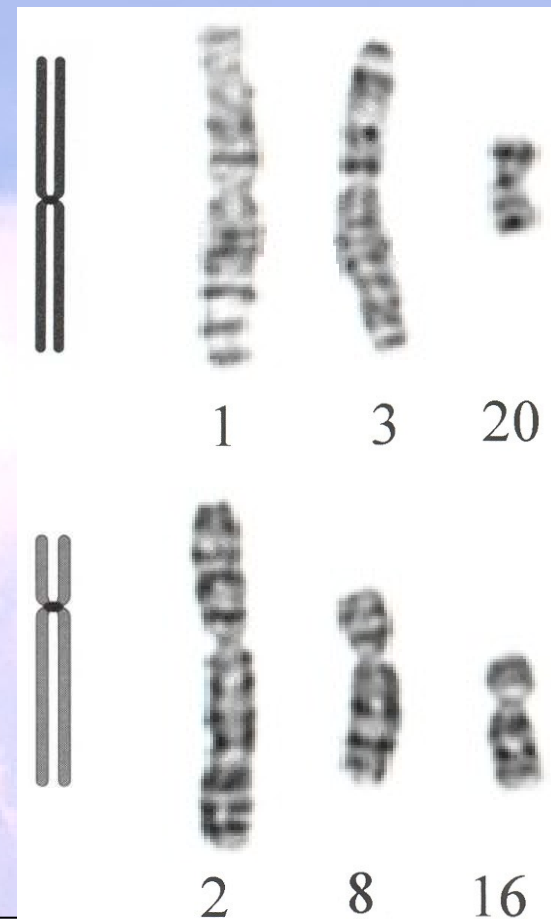
### 46,XX



# CHROMOSOMY V PRAXI

## třídění chromosomů podle umístění centromery

- **metacentrické chromosomy**  
centromera téměř nebo úplně uprostřed, tedy krátká a dlouhá raménka jsou (téměř) stejně dlouhá
- **submetacentrické chromosomy**  
centromera mimo střed chromosomu, p a q raménka jsou jasně délkově odlišena





# CHROMOSOMY V PRAXI

## třídění chromosomů podle umístění centromery

- **akrocentrické chromosomy**  
centromera je umístěna velmi blízko jednomu konci;  
od krátkých ramének jsou odškrnceny satelity (malé výrazné části konstitutivního heterochromatinu);  
místo odškrncení = sekundární konstriktce (tenké stopky);  
(sekundární konstriktce obsahuje kopie genů kódujících rRNA = organizátor jádérka)

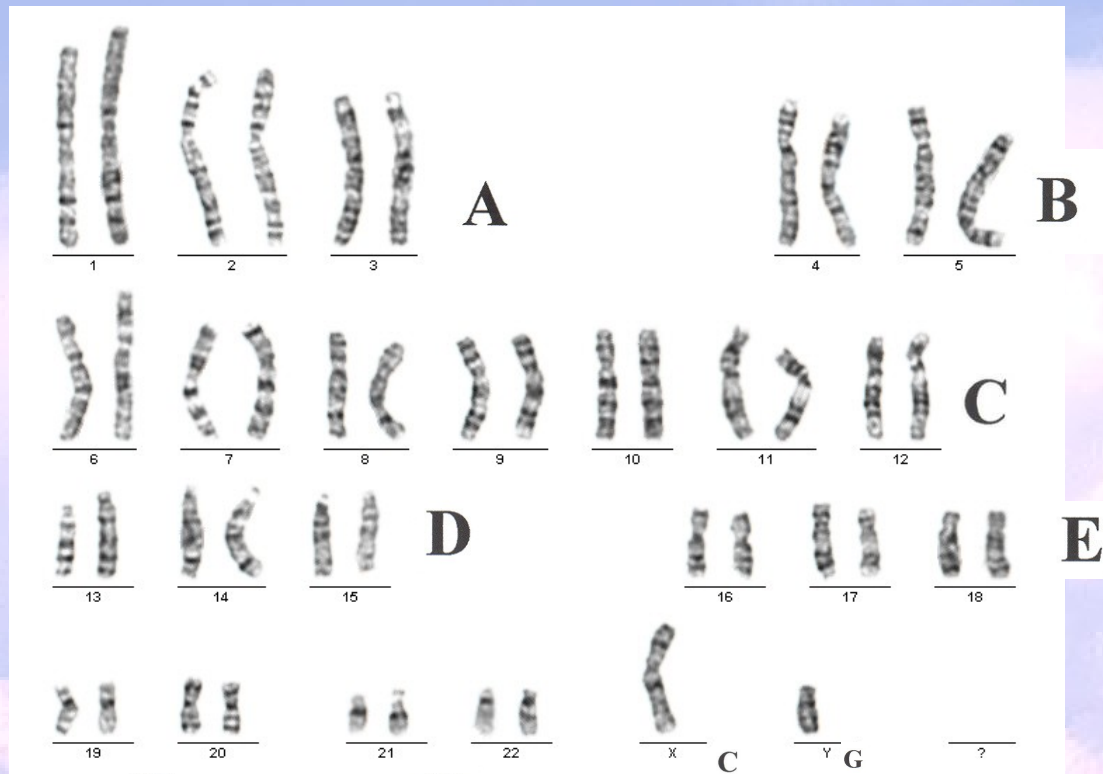


# CHROMOSOMY V PRAXI

## třídění chromosomů do skupin

### podle velikosti a pozice centromery

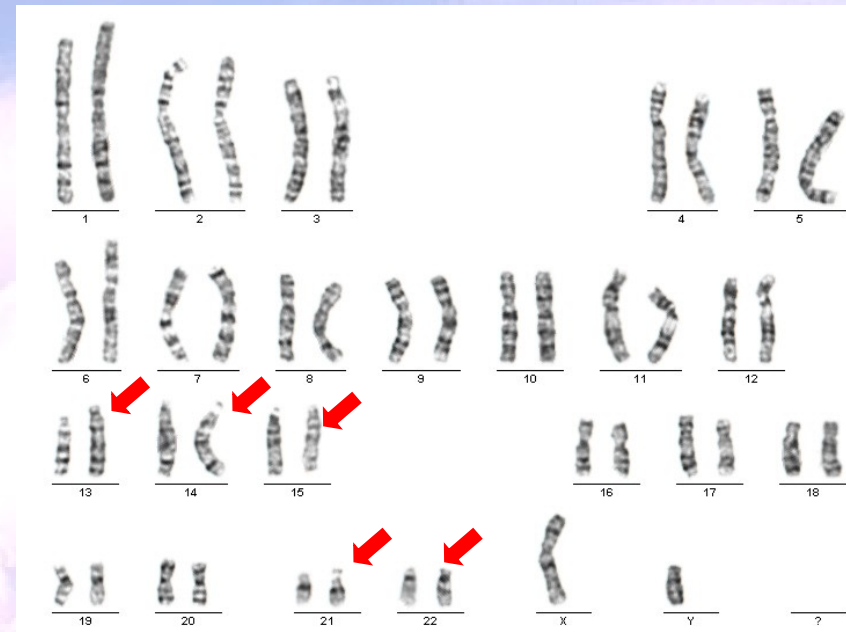
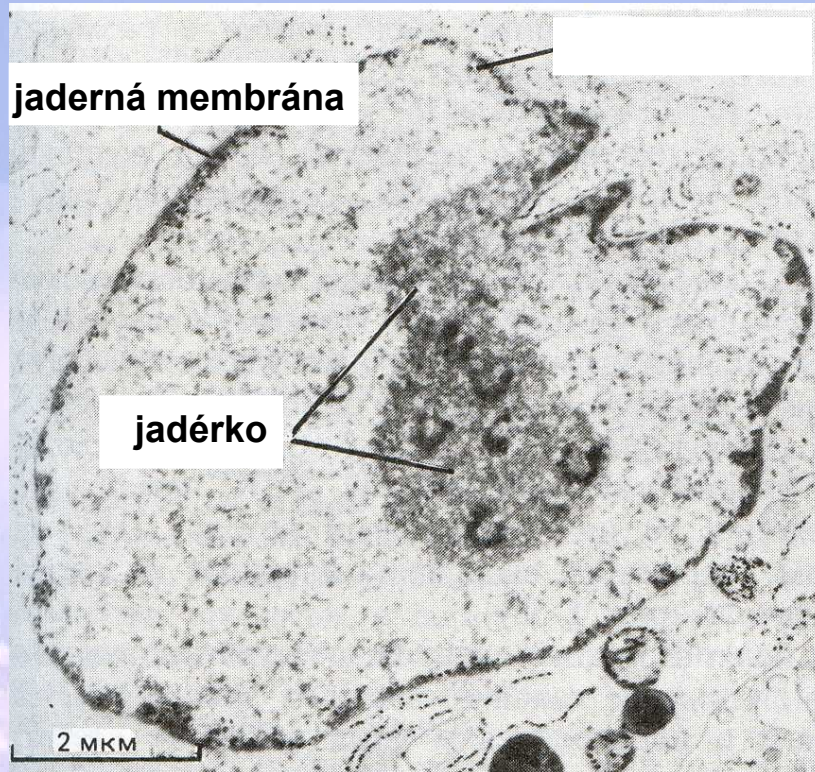
### normální mužský karyotyp 46, XY



**F** **G**  
vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno

# JADÉRKO

- difuzní struktura v jádře, která není ohraničena membránou
- dochází v ní k syntéze podjednotek ribosomů (ribosomy – bílkovinné struktury, které se účastní syntézy bílkovin v cytoplasmě) – geny pro syntézu lokalizovány v oblasti sekundární konstriktce akrocentrických chromosomů
- **je přítomno v interfázním jádře, mizí v mitóze**



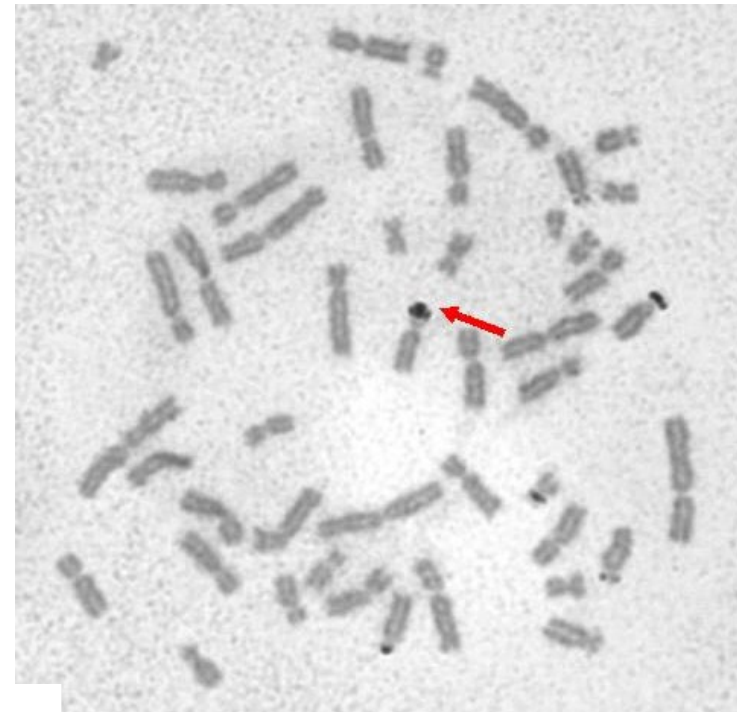
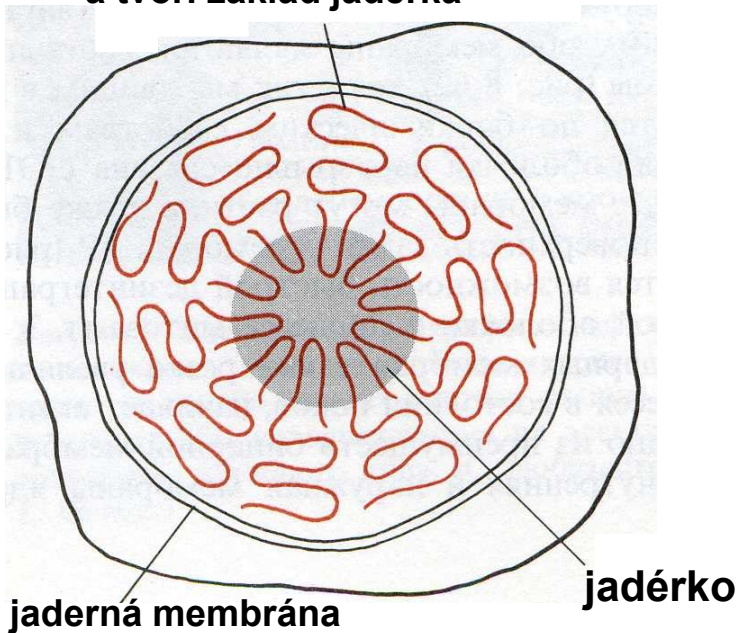
# JADÉRKO

přítomnost jadérka v interfázním jádře a jeho nepřítomnost v mitóze souvisí se spiralizací a despiralizací akrocentrických chromosomů

interfázní jádro

mitóza

10 dekonzenzovaných akrocentrických chromosomů v interfázi, jejich chromatinové smyčky, které obsahují geny pro rRNA (sekundární konstriktce) se shlukují a tvoří základ jadérka



spiralizované akrocentrické chromosomy, každý má spiralizovanou svou chromatinovou smyčku, která tvoří sekundární konstriktci

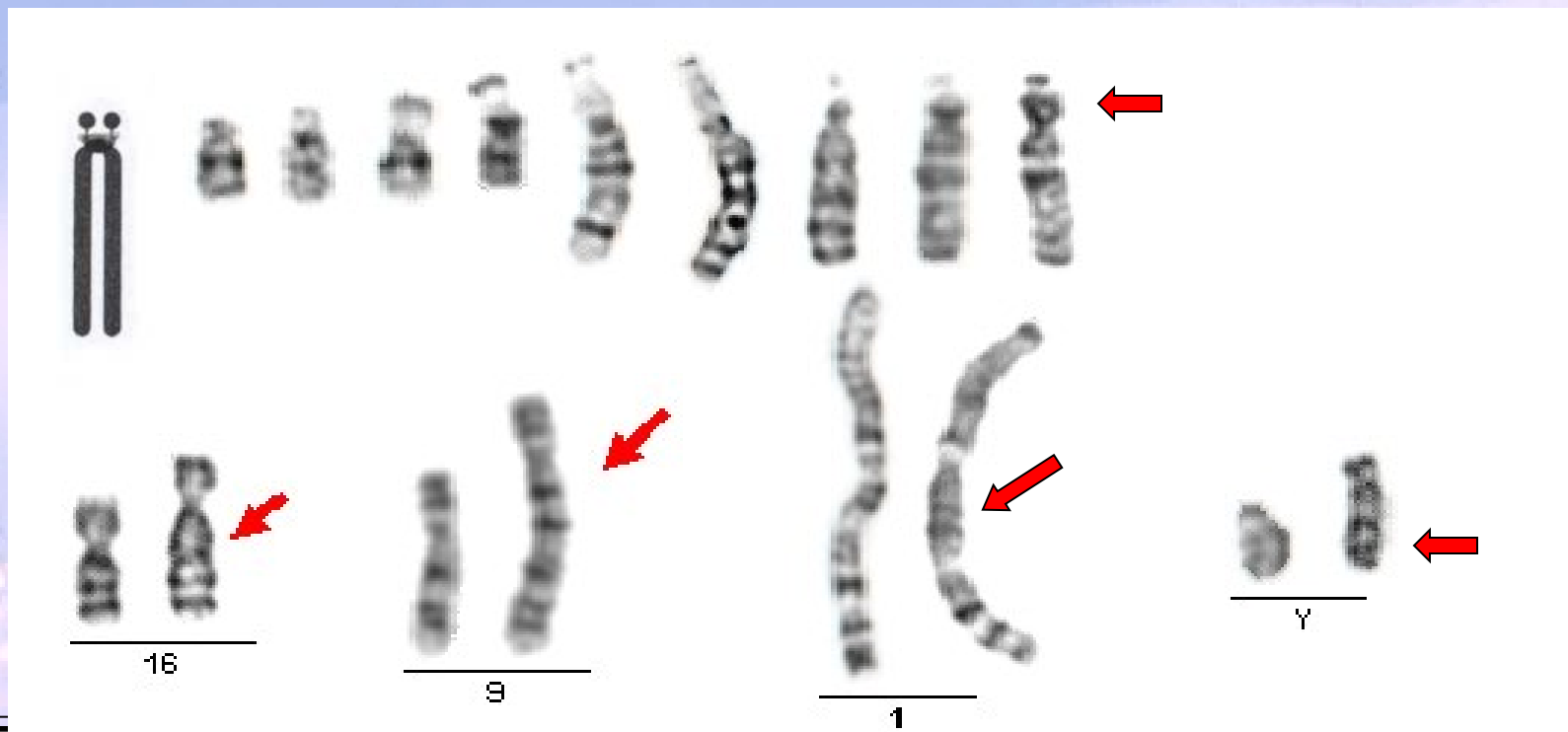
# CHROMOSOMY V PRAXI

## varianty chromosomů

### heteromorfismy

### (G – pruhování)

varianty heterochromatinu a satelitů



# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

- odběr materiálu
- kultivace
- zpracování suspenze
- pruhování / barvení chromosomů

- metody 1. volby v indikovaných případech
- relativně levné metody (ve srovnání s metodami molekulární cytogenetiky)



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

## HISTORIE

- vznik moderní lidské cytogenetiky

- datuje se od roku **1956**, kdy byl stanoven počet lidských chromosomů a byly vyvinuty efektivní metodiky analýzy chromosomů

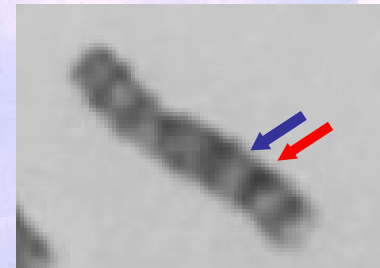
- klasická konvenční metoda barvení chromosomů

- (chromosomy obarveny po celé délce – lze třídit chromosomy podle velikosti a polohy centromery)



- pruhovací metody (1968-70)

- (proužky na chromosomech, které umožňují individuální rozlišení jednotlivých chromosomů a chromosomových změn)



# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

## odběr materiálu

Odběr materiálu pro účely **cytogenetického vyšetření**, vždy za sterilních podmínek!!!

- do **heparinu** (nesrážlivá krev) – periferní krev, krev plodu (obv. 3 ml)
- do heparinu a transportního média – kostní dřeň (obv. 1-2 ml)
- do transportního média – solidní tumory, kůže (obv. 1x1 cm), choriové klky (obv. 20 mg)
- **bez přídavku** média a dalších látek – plodová voda (obv. 20 ml)





# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

## odběr materiálu

Odběr materiálu pro cytogenetickou analýzu a typy buněk, které jsou v konkrétním materiálu vhodné pro získání metafázních chromosomů :

- periferní krev – ze žíly – T-lymfocyty
- fetální krev – z pupečníku pod kontrolou UZ – nezralé T-lymfocyty
- plodová voda – z amniového vaku pod kontrolou UZ - kožní fibroblasty
- choriové klky – z chorionu nebo placenty - buňky choriových klků nebo placenty
- kůže – z potracených plodů, kožní biopsie pacientů – kožní fibroblasty
- kostní dřeň – z prsní kosti, kyčlí – prekurzory krevních buněk
- solidní tumory – z nádoru – maligní buňky

# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

## odběr materiálu



odebraná  
periferní  
krev



odebrané choriové klky



odběr plodové vody

# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

## kultivace materiálu



- **délka kultivace**

- **periferní krev – 72 hodin (stanovení karyotypu)**
  - **48 hodin (stanovení ZCA)**  
kratší doba kultivace - podmínkou je zachytit 1. buněčné dělení, později dochází k reparaci chromozomů nebo k zániku buněk s aberací
- krev plodu 72 hodin (stanovení karyotypu)
- **plodová voda – průměrně 10 dní (stanovení karyotypu)**
- choriové klky – přes noc (stanovení karyotypu)
- **kostní dřev – přímé zpracování** buněk  
ihned po odběru
  - **24 hodin** (48 hodin spec. případy)  
**(stanovení karyotypu maligních klonů v KD)**
- kůže – variabilní doba růstu (průměrně 2 týdny)
- solidní tumory – minimálně 3 týdny  
(stanovení karyotypu maligních klonů v tumoru)



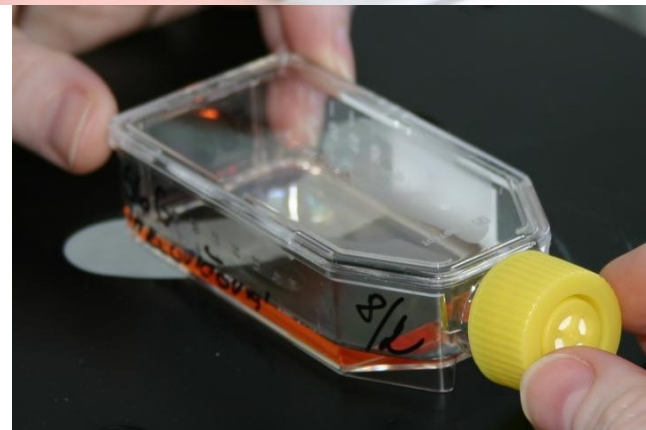
# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

## kultivace materiálu

- kultivace buněk v suspenzi (periferní krev, fetální krev, choriové klky, kostní dřeň) 
- kultivace buněk přichycených na dně kultivační nádobky (plodová voda, solidní tumory, kůže) - po kultivaci pomocí roztoku trypsinu odloupneme ode dna, dále zpracováváme jako suspenzi buněk 



kultivace periferní krve



kultivace plodové vody

# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

## kultivace T-lymfocytů z periferní krve

- **kultivace periferní krve v médiu s přidavkem phytohemaglutininu (PHA) = výtažek z fazolu obecného (*Phaseolus vulgaris*)**
  - T-lymfocyty = zralé diferencované buňky s malou spontánní mitotickou aktivitou
  - vlivem PHA se dediferencují (přeměna na nezralé buňky lymfoblasty, které se dělí (tzn. vstupují do mitózy!) (např. k nezralým buňkám – blastům z kostní dřeně onkologických pacientů není třeba PHA přidávat, dělí se samovolně)
  - význam kultivace – pomnožení T-lymfocytů
  - složení kultivačního média – živné látky, antibiotikum, PHA, stabilizátor pH

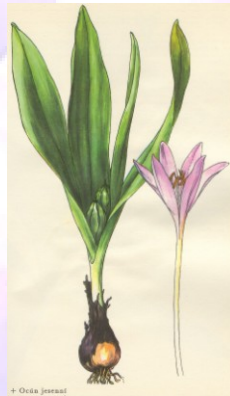


# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

## zpracování suspenze

- **aplikace kolchicinu (alkaloid z ocúnu jesenního *Colchicum autumnale*)**

- zastavení dělení buněk v metafázi mitózy
- kolchicin je mitotický jed, který specificky inhibuje dělicí vřeténko a tím zastavuje dělení buněk v metafázi mitózy, kdy jsou chromosomy vhodné k analýze

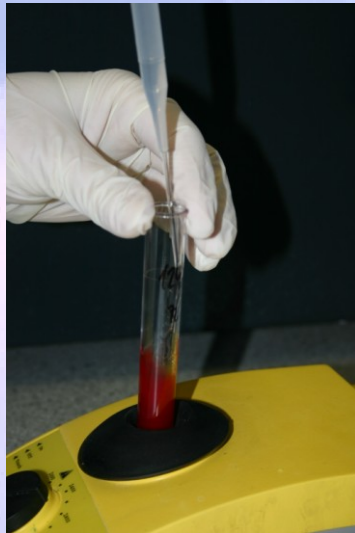


# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

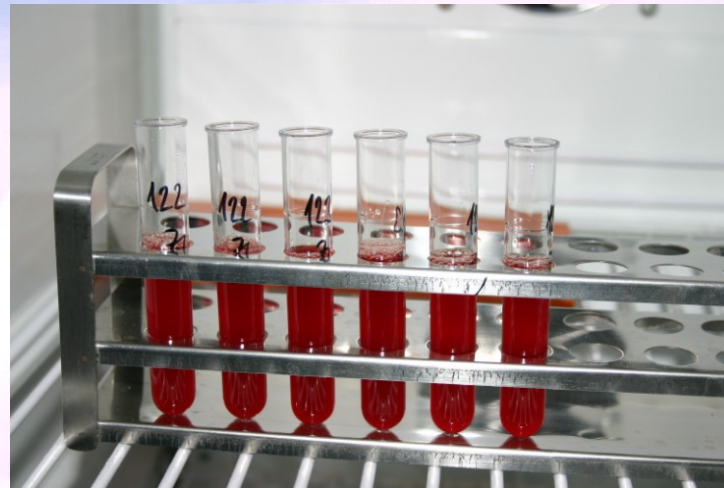
## zpracování suspenze

- **hypotonizace**

lýza erytrocytů, zvětšení objemu jader, rozestoupení chromosomů  
v důsledku působení roztoku KCl



přidavek roztoku KCl



inkubace hypotonizační směsi v termostatu 37°C

# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

## zpracování suspenze

- **fixace** – získání suspenze
  - kyselina octová (1) : metanol (3)
  - náhlé a trvalé zastavení veškerých životních pochodů buňky, odvodnění, rozpuštění cytoplazmy, projasnění jader

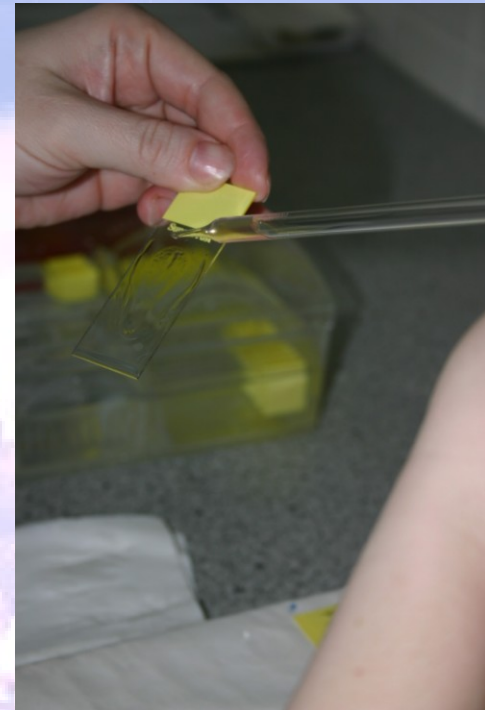




# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

## zpracování suspenze

- vykapání suspenze na podložní sklíčka



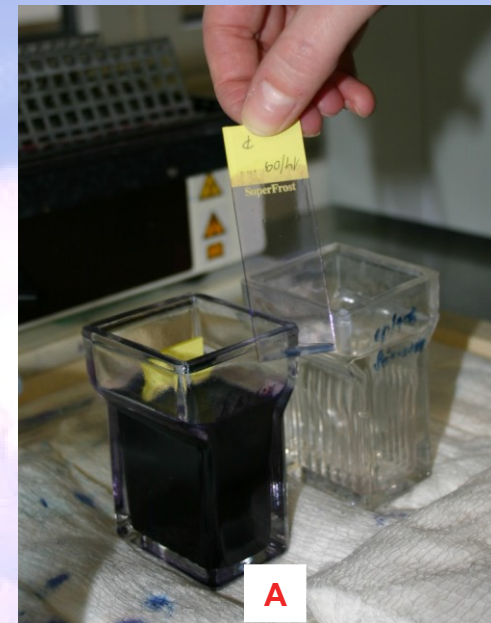
# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

## pruhování chromosomů

- pruhování chromosomů



1 - inkubace preparátu v roztoku enzymu trypsinu (natrávení chromosomových proteinů)



2 – barvení barvivem Giemsa – Romanowski - A

# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

## barvení / pruhování chromosomů

- **barvení Giemsovým barvivem** (bez inkubace v roztoku trypsinu, obarvuje chromosomy po celé délce) - **analýza ZCA** - viz také kapitola „Získané chromosomové aberace“

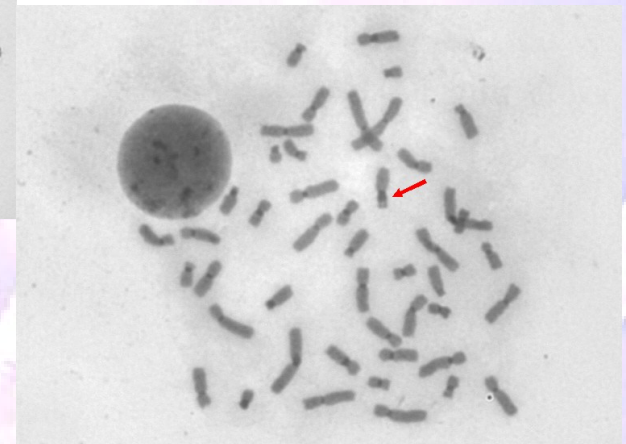


- **pruhování chromosomů** (analýza karyotypu, karyotypu maligních klonů)



chromosomy s G - pruhy

- **speciální barvení** – „C“, „NOR“ - dovyšetření nálezů na chromosomech



„C“ barvení - vizualizace heterochromatinových oblastí na chromosomech

# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

## barvení chromosomů

**Příprava preparátů na ZCA (získané chromosomové aberace) se liší od přípravy preparátů na stanovení karyotypu (VCA – vrozené chromosomové aberace):**

- materiál – periferní krev
- kultivace buněk v suspenzi 48 hodin s přidáním PHA
- kolchicin, hypotonizace, fixace, vykapání suspenze na sklíčka
- **BARVENÍ GIEMSOVÝM BARVIVEM bez inkubace v roztoku trypsinu – OBARVENÍ CHROMOSOMŮ PO CELÉ DÉLCE (bez pruhů)**



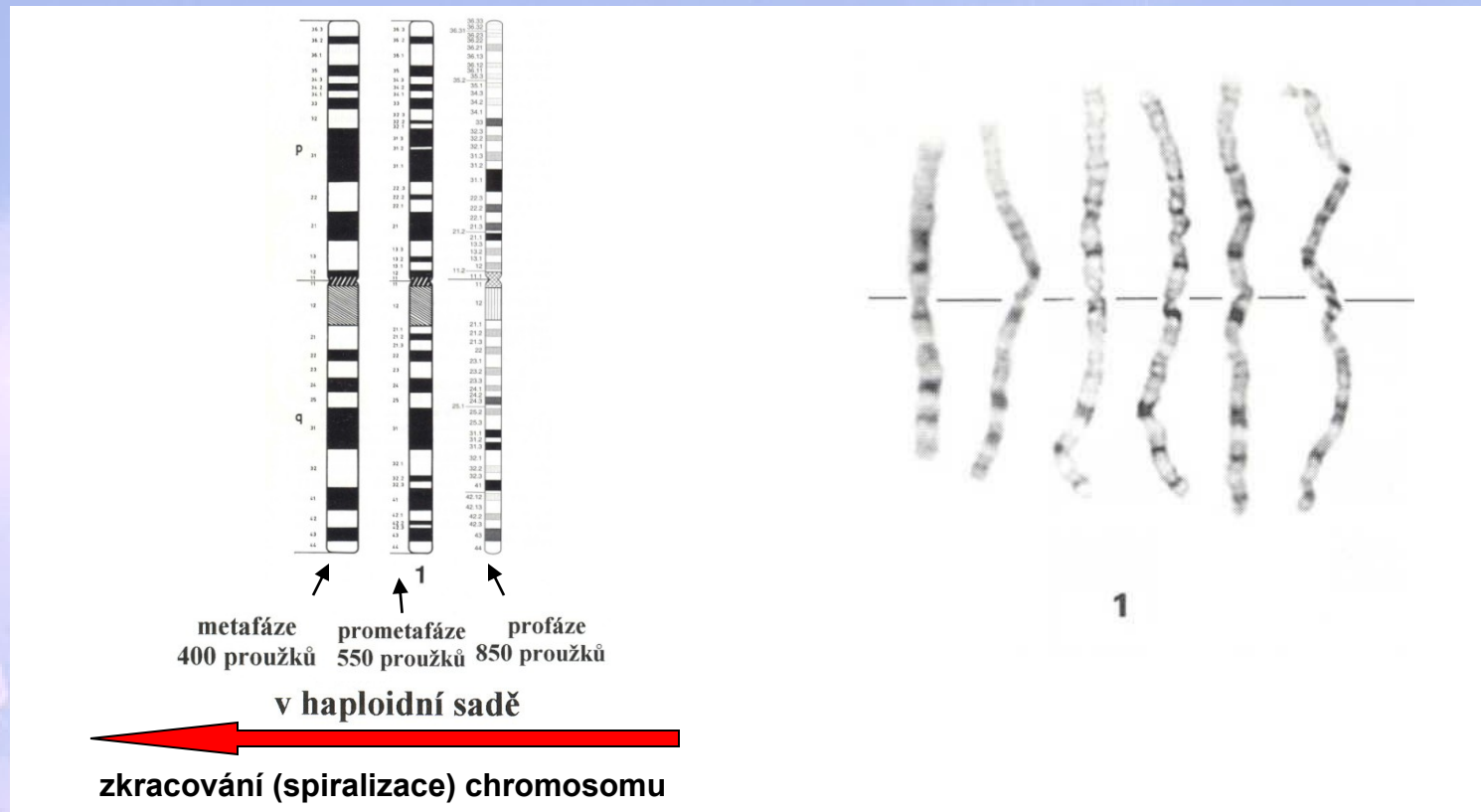
# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY pruhování chromosomů

- pruhovací metody umožňují individuální diferenciaci jednotlivých chromosomů  
(byly zavedeny v letech 1968 -71)
- do té doby bylo možné pouze obarvit chromosomy barvivem – orcein, karbolfuchsin, Feulgenovo barvivo a seřadit je do skupin podle velikosti a poměru krátkých a dlouhých ramének
- ke klasifikaci chromosomů byl mezinárodně přijat jednotný systém, který vychází z identifikace lidských chromosomů pruhovacími a barvicími postupy



# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY pruhování chromosomů

G – pruhování chromosomu č. 1 – vzor a reálné chromosomy



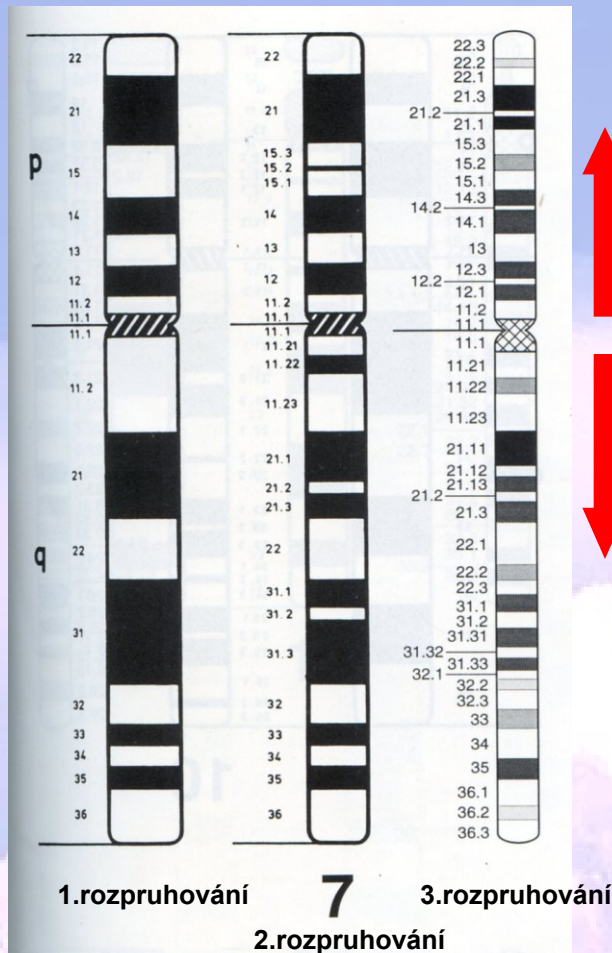
# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY pruhování chromosomů

## číslování pruhů na chromosomech

pruhy na každém raménku jsou očíslovány  
vzestupně od centromery k telomeře

s postupnou kondenzací chromosomu  
se zmenšuje počet pruhů

číslo pruhu umožňuje jednoznačnou identifikaci  
každého pruhu



# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

## význam pruhování chromosomů

- rozeznáme chromosomy podobné morfologie (specifické pruhy každý chromosom)
- lze zkontrolovat genetický materiál chromosomu po celé délce
- zápis strukturních přestaveb – v zápisu strukturní přestavby jsou uvedena čísla pruhů na ramenech chromosomů, které vstoupily do přestavby, ve kterých došlo ke zlomu.



**definován  
přesný  
rozsah  
a lokalizace  
abnormality**

**46,XX,t(1;15)(q12;q22)**



# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

## pruhování chromosomů

### G – pruhování

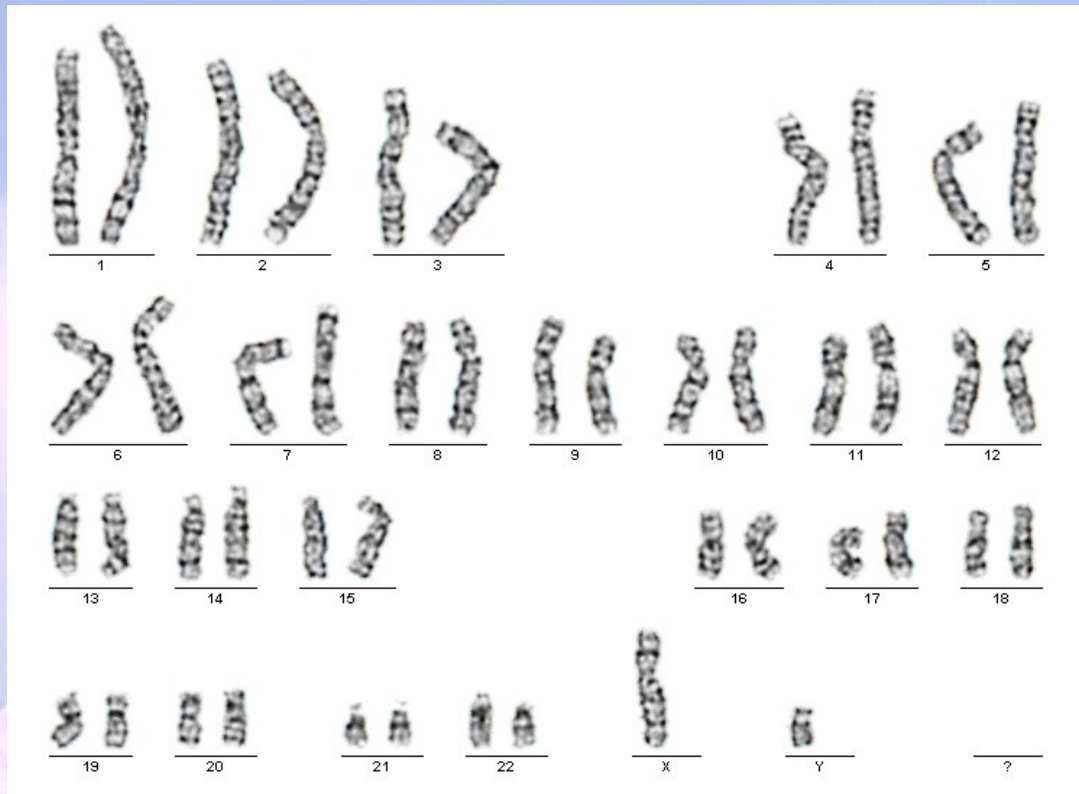
- nejčastěji rutinně užívaná metoda
- chromosomy jsou vystaveny účinkům trypsinu (proteolytický enzym), který natráví chromosomové proteiny
- chromosomy obarvíme Giemsovým barvivem (směs barviv)
- výsledek – každý chromosom se specificky obarví (střídavé tmavé a světlé proužky různé tloušťky, tmavé proužky jsou bohaté na adenin a thymin, světlé na cytozin a guanin)
- získané pruhy jsou specifické pro každý chromosomový pár
- lze snadno rozpoznat strukturní a numerické abnormality
- 1 pruh na chromosomu obsahuje 50 i více genů



# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

## G – pruhování chromosomů

### normální mužský karyotyp 46,XY



# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

## Q - pruhování chromosomů

- barvení akridinovými deriváty (fluoreskující látky – fluorochromy), akridin se specificky váže na oblasti bohaté na adenin (A) a thymin (T)
- Q - pruhy (světlé a tmavé), přibližně odpovídají G - pruhům
- nevýhody – je třeba speciální fluorescenční mikroskop a při delší expozici UV světlem fluorescence slábne

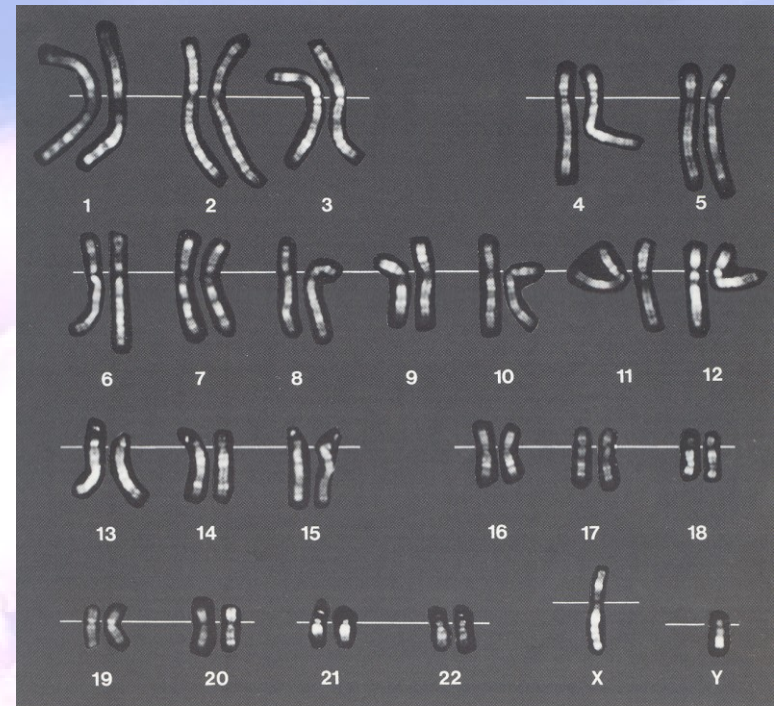
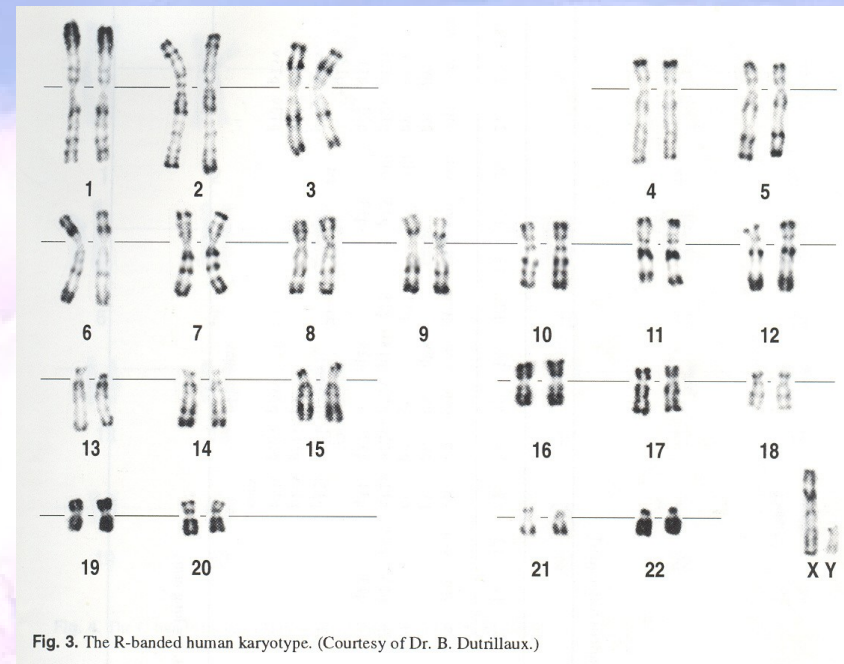


Fig. 1. The Q-banded human karyotype. (Courtesy of Dr. E. Magenis.)

# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

## R - pruhování chromosomů

- vystavení chromosomů působení specifických vlivů před obarvením (zahřátí)
- R = reverse (opačný), tzn. R – pruhy jsou opačné ke G - a Q – pruhům (kde jsou G - a Q – pruhy světlé, tam jsou R – pruhy tmavé a opačně)



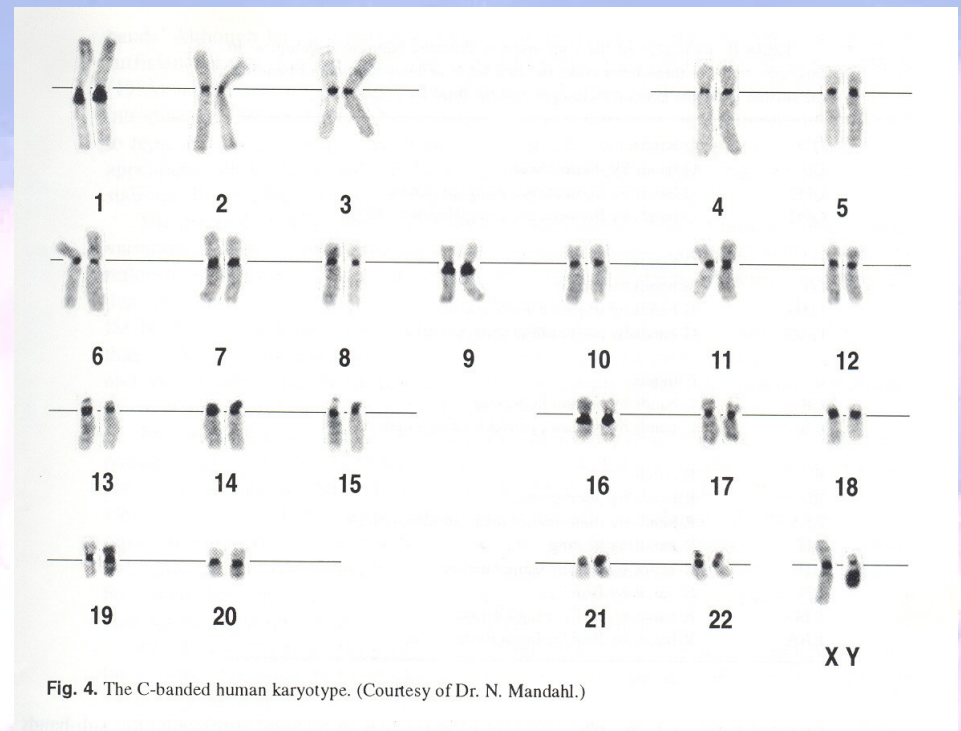
# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

## C – barvení chromosomů

### vizualizace konstitutivního heterochromatinu

(konstitutivní heterochromatin v oblasti centromer a na dlouhých raméncích některých chromosomů – 1q, 9q, 16q, Yq)

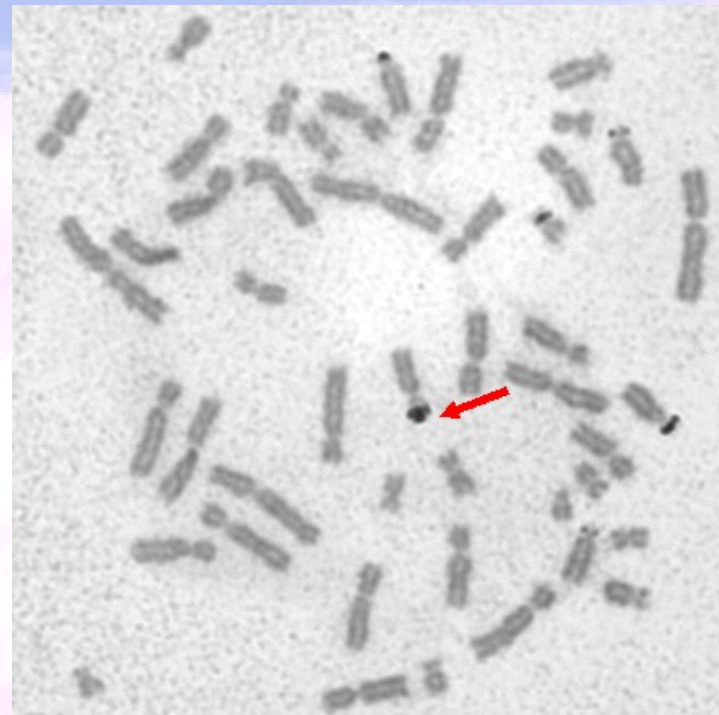
- metoda založena na denaturaci DNA působením různých agens (HCl, Ba(OH)<sub>2</sub>) a následné reasociaci v teplém pufru



# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

## NOR – barvení chromosomů

- **navázání zrn stříbra na aktivní oblast organizátoru jadérka** (sekundární konstrikce akrocentrických chromosomů)
- **stříbro se vyloučí z AgNO<sub>3</sub> za vyšší teploty a v kyselém prostředí**
- zjišťujeme, jestli jsou satelity schopny aktivity (jestli na nich není navázán euchromatin, který by aktivitě bránil a mohl by být nebalancovaným materiálem v karyotypu)
- každý akrocentrický chromosom nemusí být aktivní ve všech buňkách



# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

## hodnocení

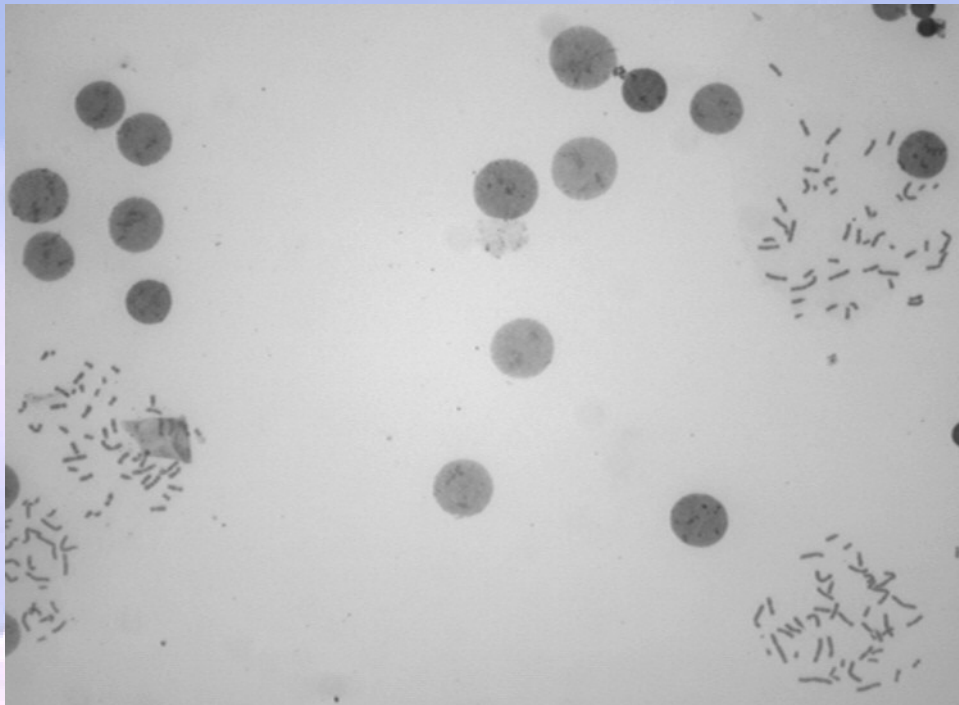
Chromosomy hodnotíme ve **světelném mikroskopu** při zvětšení přibližně 1000x za použití imerzních objektivů.



# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

## hodnocení

zvětšení 100 - 200x  
vyhledávání mitóz



zvětšení přibližně 1000x  
hodnocení



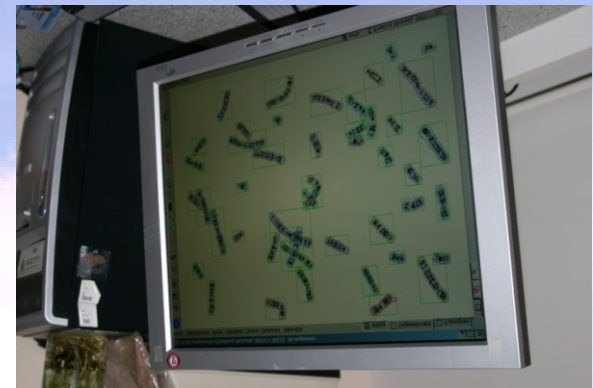


# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

## hodnocení

ke třídění chromosomů a sestavení karyotypu lze využít počítačového programu Lucia.

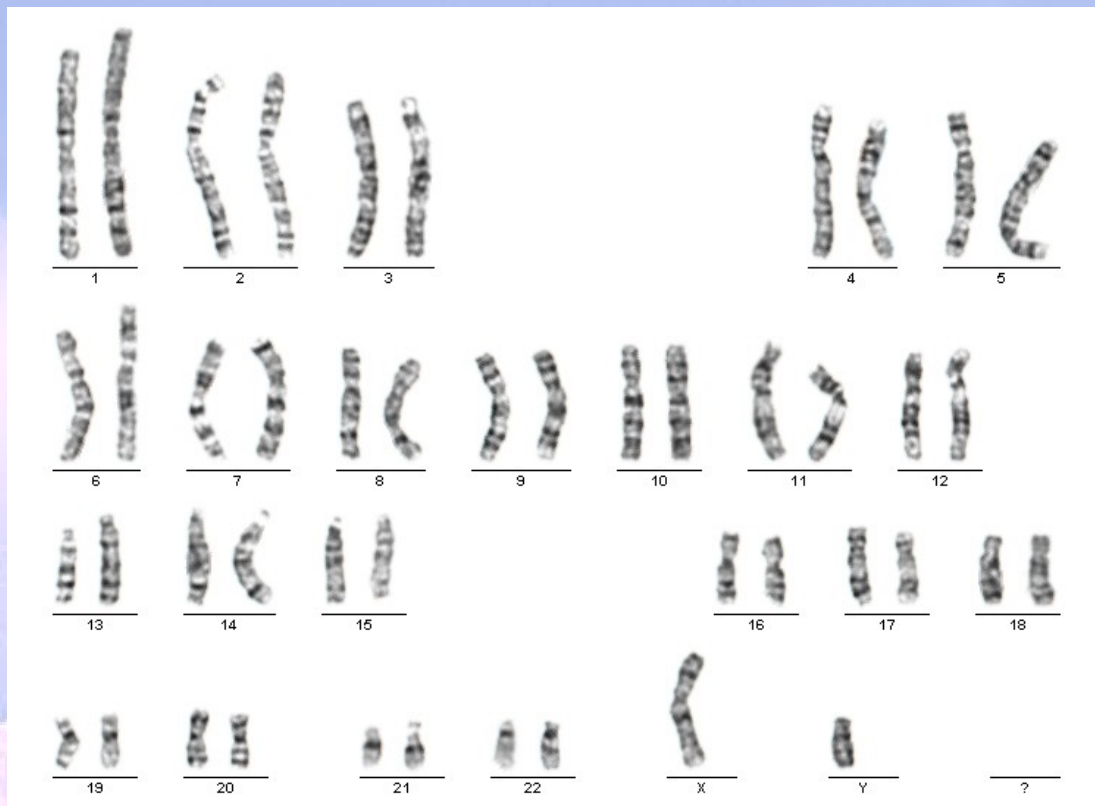
světelný mikroskop  
s CCD kamerou  
napojený na počítač



# METODY KLASICKÉ CYTOGENETIKY

## hodnocení

karyotyp setříděný a upravený pomocí počítačového programu Lucia





Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



# CHROMOSOMOVÉ ABNORMALITY (ABERACE)

- **vrozené chromosomové aberace (VCA)**

(vyšetření karyotypu) – početní - **vyšetřujeme 10 nebo 30 mitóz, případně dovyšetřujeme FISH do 200 mitóz**

- strukturní – **vyšetřujeme 10 mitóz, potvrzujeme FISH**

- prenatální a postnatální stanovení karyotypu (vyšetření karyotypu plodu, vyšetření dětí s vrozenými vývojovými vadami, párů s poruchou fertility ....)

- **získané chromosomové aberace (ZCA)**

(stanovení % aberantních buněk)

- vyšetření u pacientů, kteří pracují v rizikovém prostředí (kontakt se škodlivými látkami, zářením) ...., **vyšetřujeme 100 mitóz**



# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

- významně se podílejí na mnoha případech poruch reprodukce, vrozených malformací, mentálních retardací
- cytogenetické poruchy jsou přítomny přibližně u 1% živě narozených dětí

Tabulka 9.1 Výskyt chromozomálních abnormalit v různých fázích prenatalního a postnatálního vývoje

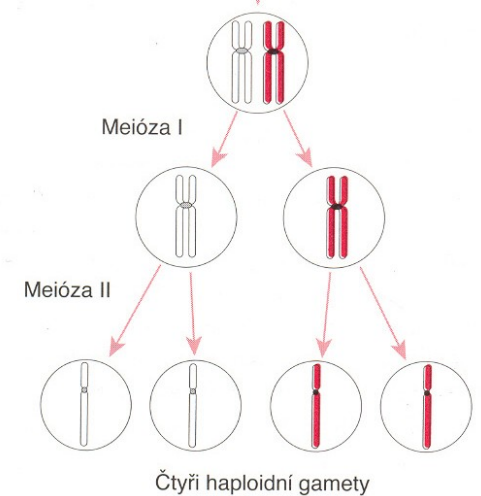
Abnormální karyotyp	Potrasy v prvním trimestru	Plody matek starších než 35 let*	Živě narozené děti
Celkový výskyt	1/2	1/50	1/160
Procento abnormalit			
Numerické abnormality	96 %	85 %	60 %
Strukturní abnormality			
balancované	–	10 %	30 %
nebalancované	4 %	5 %	10 %

\* Výsledky vyšetření z amniocentéz. Údaje shrnuty v práci Hsu LYF Prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities through amniocentesis. In Milunsky A (ed.) Genetic Disorders and the Fetus, 4. vyd., Baltimore, Johns Hopkins University Press 1998, 179–248.

# MEIÓZA

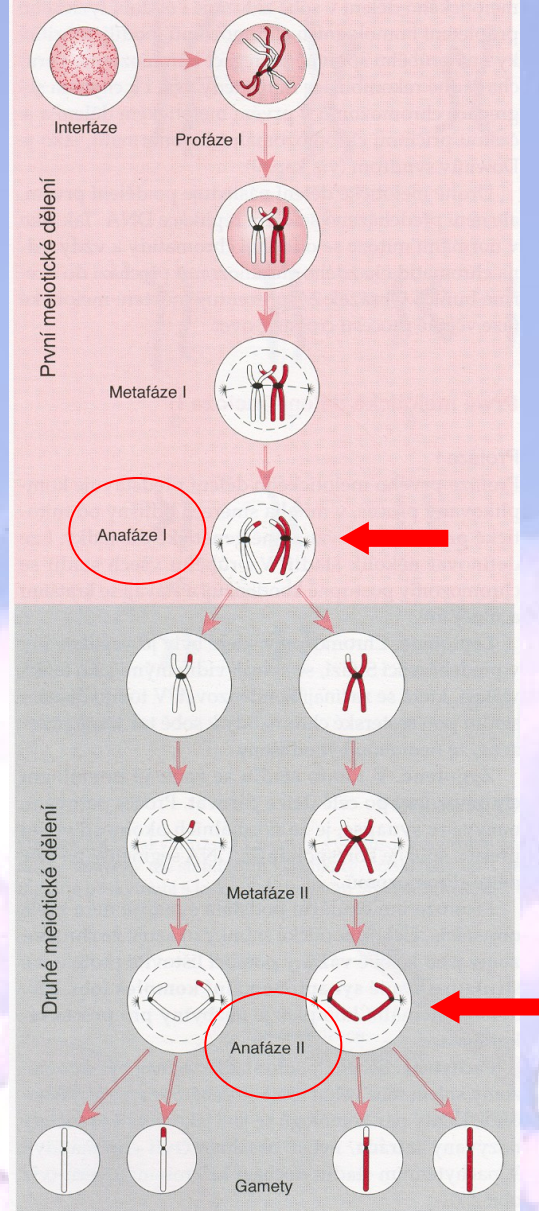
- typ buněčného dělení, při kterém z diploidních zárodečných buněk (primárních oocytů a primárních spermatocytů) vznikají haploidní gamety

**z 1 diploidní zárodečné buňky  
vzniknou 4 haploidní gamety**



Obrázek 2.6 Zjednodušené znázornění základních stadií meiózy sestávajících z jednoho cyklu replikace DNA, následovaného dvěma cykly segregace chromozomů, prvním a druhým meiotickým dělením.

# MEIÓZA



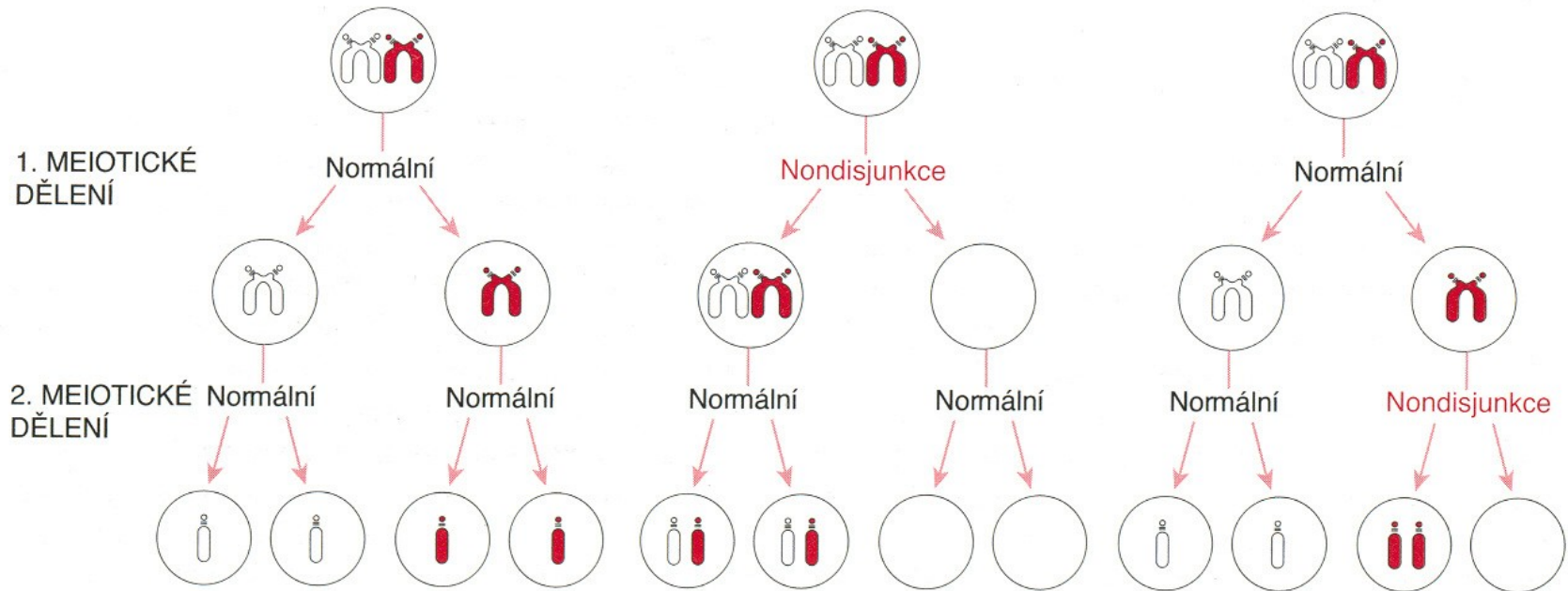
Obrázek 2.7 Schematické znázornění meiotického dělení a jeho důsledků. Je ukázán jeden chromozomální pár a jeden crossing-over vedoucí k produkci čtyř odlišných gamet.

# PORUCHY V MEIÓZE

- **meiotická nondisjunkce - porucha rozchodu páru chromosomů** v anafázi meiózy I nebo II (většinou v průběhu meiózy I)
- důsledkem nondisjunkce je **aneuploidie** – abnormální počet chromosomů v chromosomovém páru v karyotypu, který je způsoben **absencí chromosomu nebo přítomností nadbytečného chromosomu**
- oba chromosomy v páru v anafázi meiotického dělení přemístí ke stejnému pólu místo aby segregovaly k opačným pólům v karyotypu,
- nejčastější mutační mechanismus našeho druhu



# PORUCHY V MEIÓZE



**Obrázek 9.7** Odlišné důsledky nondisjunkce v prvním (uprostřed) a druhém meiotickém dělení (vpravo) ve srovnání s normálním rozchodem chromozomů (vlevo). Jestliže k poruše dojde v prvním meiotickém dělení, gamety buď obsahují oba chromozomy 21 nebo v nich chromozom 21 zcela chybí. Pokud se nondisjunkce uskuteční až ve druhém meiotickém dělení, obsahují abnormální gamety dvě kopie chromozomu 21 (obě od jediného rodiče) anebo v nich chromozom 21 není přítomen.

# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) abnormality počtu chromosomů

- **abnormality počtu chromosomů**

- **polyploidie** – počet chromosomů je více než dvojnásobkem haploidního počtu ( $n = 23$ ) (triploidie  $3n = 69$ , tetraploidie  $4n = 92$ )

**většinou pouze u plodů** (samovolné aborty)

- **aneuploidie** – nejčastější a klinicky velmi významný typ chromosomových poruch
  - abnormality počtu chromosomů v páru
  - tento stav je vždy spojen s poruchou fyzického nebo mentálního vývoje



# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) abnormality počtu chromosomů aneuploidie

- **trisomie** – nejčastější porucha  
(přítomnost nadbytečného chromosomu v páru)

**trisomie autosomů** (trisomie celého chromosomu  
je jen vzácně slučitelná se životem)

- Downův syndrom 47,XX/XY, +21
- Edwardsův syndrom 47,XX/XY, +18
- Patauův syndrom 47,XX/XY, +13

**trisomie gonosomů** (fenotypové důsledky jsou méně  
závažné než u trisomie autosomů)

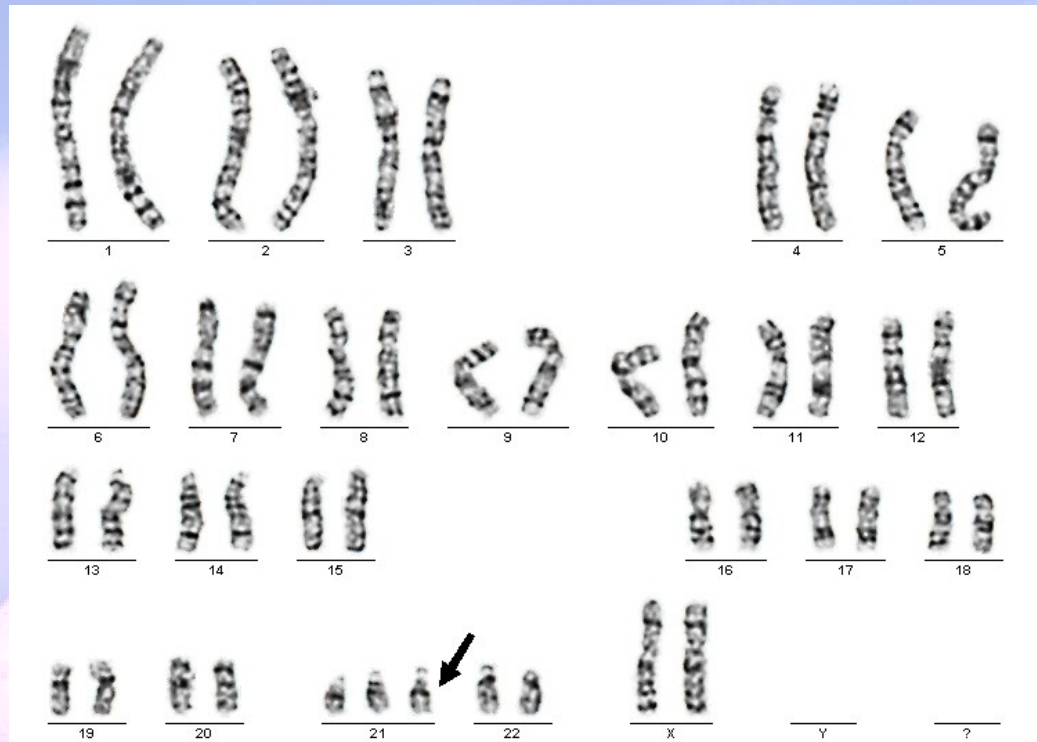
- Klinefelterův syndrom 47,XXY (muž)
- další syndromy



# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

abnormality počtu autosomů  
Downův syndrom

Downův syndrom 47, XX, +21

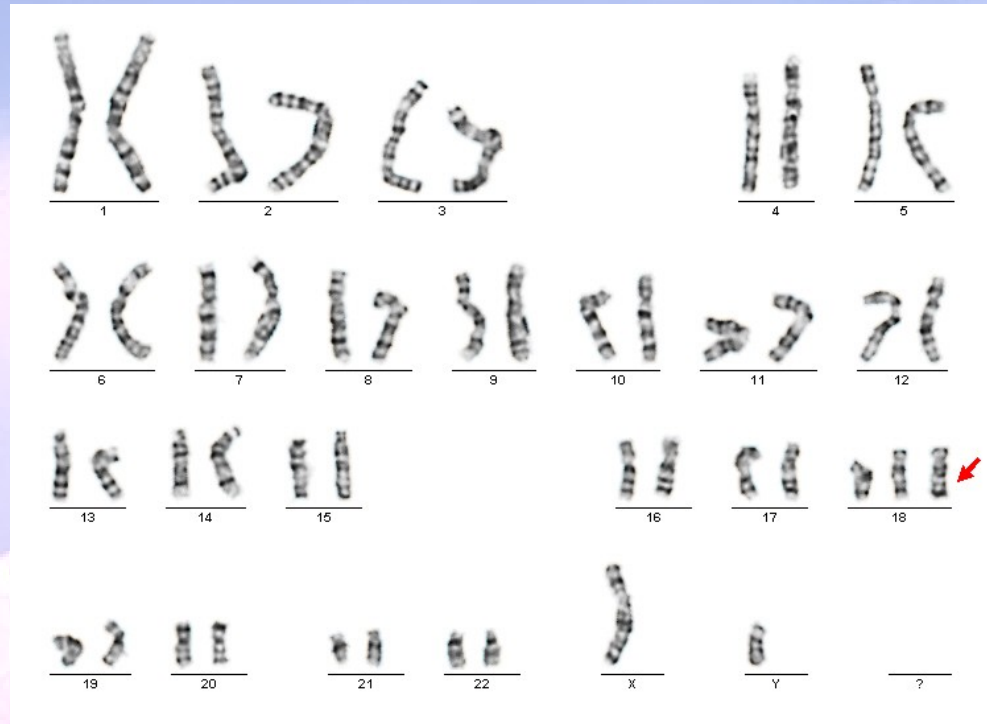


# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

abnormality počtu autosomů

Edwardsův syndrom

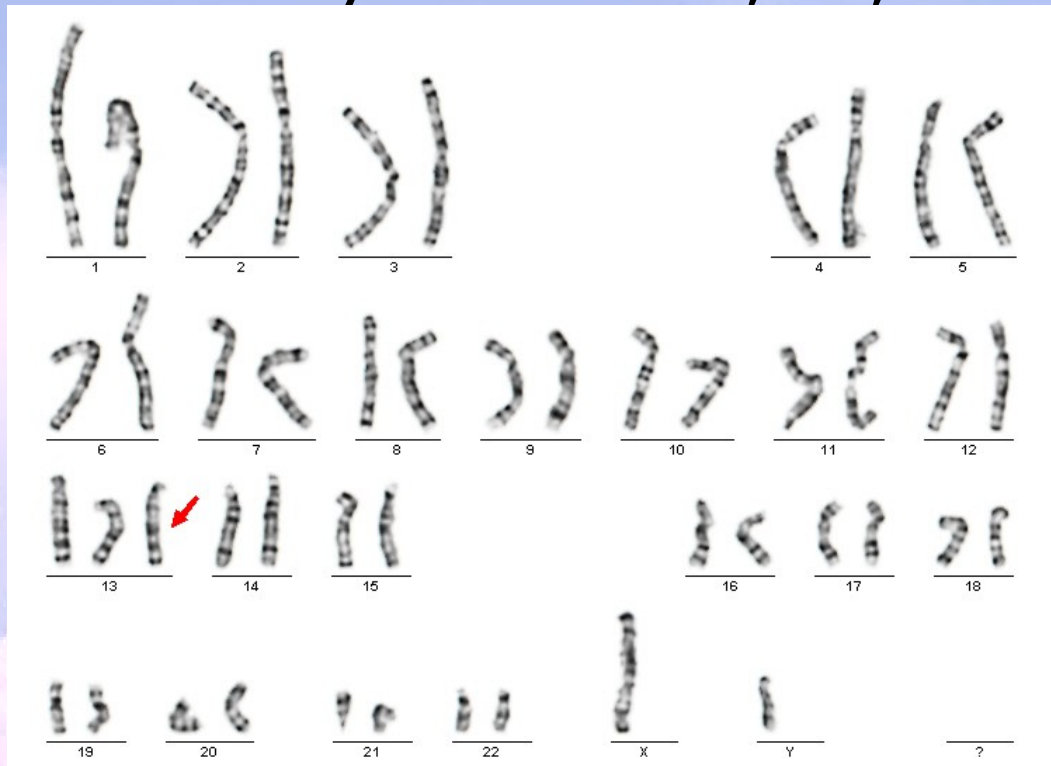
Edwardsův syndrom 47,XY,+18



# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

abnormality počtu autosomů  
Patauův syndrom

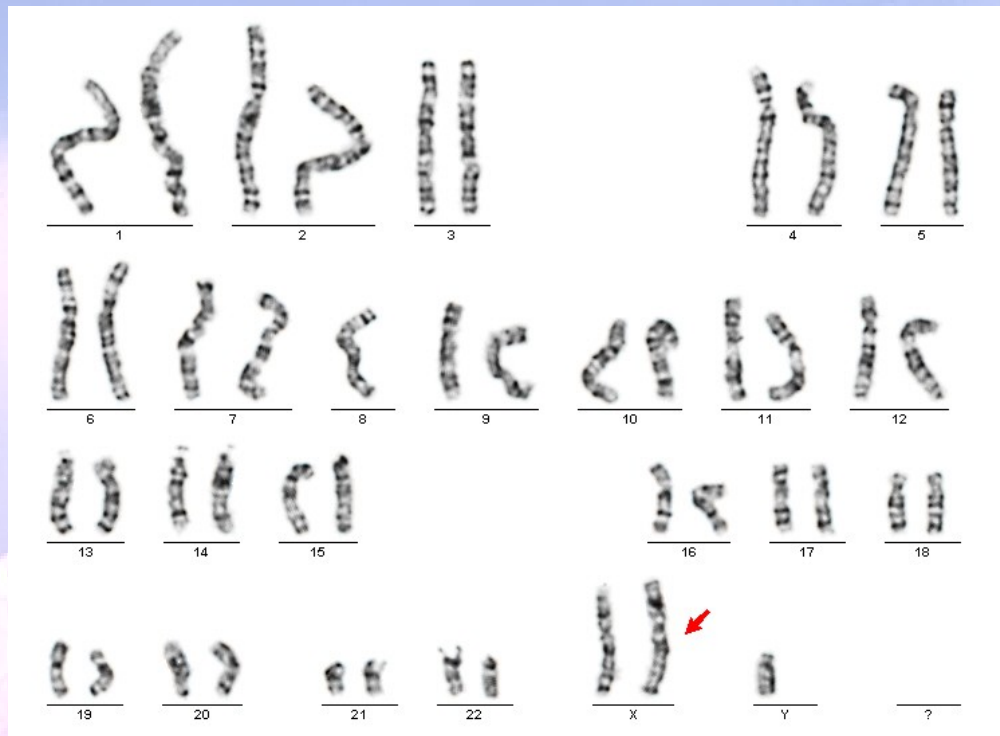
Patauův syndrom  $47,XY,+13$



# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA)

abnormality počtu gonosomů  
Klinefelterův syndrom

Klinefelterův syndrom 47,XXY



# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) abnormality počtu chromosomů aneuploidie

- **monosomie**
  - méně častá porucha  
(chybění chromosomu v páru)
  - **monosomie gonosomu X** (Turnerův syndrom)  
**45,X** (žena)  
častý výskyt
  - **monosomie autosomů** – výjimečně se vyskytující porucha, slučitelná se životem jen u některých chromosomů a to v **mozaice** (v těle jedince mohou být přítomny 2 nebo více buněčné linie s různou chromosomovou sestavou, např. linie normální s linií s monosomií chromosomu č.18)  
**45,XX,-18[10]/46,XX[190]**





# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) abnormality počtu gonosomů Turnerův syndrom

## Turnerův syndrom 45,X



# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby

- **strukturní abnormality chromosomů**
- méně časté než aneuploidie
- dochází k přestavbám a následně ke změnám morfologie chromosomů
- předpokladem je vznik **zlomů** na chromosomech
- strukturní abnormality se vyskytují přibližně u 1:375 novorozenců
- k chromosomovým změnám dochází spontánně nebo mohou být vyvolány působením faktorů, které zlomy způsobují

# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby

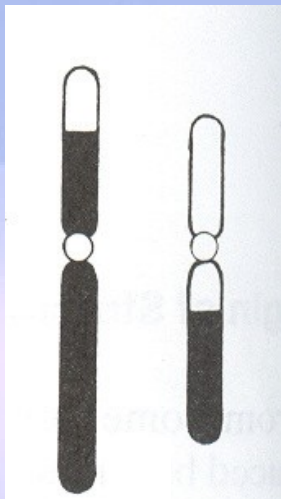
- méně časté než aneuploidie
- změna struktury chromosomů
- podmínkou je vznik zlomů na chromosomech
- metodami klasické cytogenetiky (ve světelném mikroskopu) lze na chromosomech rozlišit pouze strukturní změny o určité velikosti (>5Mb)
- změny menší lze detekovat metodami s vyšší rozlišovací schopností – metodami molekulární cytogenetiky

# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby

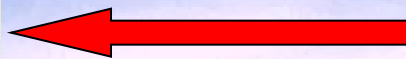
- **balancované přestavby** - v sadě chromosomů je zachováno normální množství chromosomového materiálu
  - většinou nemají fenotypové vyjádření, v buňkách je přítomen veškerý chromosomový materiál, i když v odlišném uspořádání
  - mohou mít fenotypové vyjádření v případě, že jsou v důsledku přestavby vyřazeny některé geny z funkce, v místě zlomu vznikla malá delece, která není detekovatelná ad. (zdánlivě balancovaná chromosomová přestavba)
- **nebalancované přestavby** – část chromosomového materiálu v karyotypu chybí (**parciální monosomie**) a (nebo) část přebývá (**parciální trisomie**), v některých případech může být v karyotypu přítomna kombinace těchto změn
  - většinou dochází k fenotypovým abnormalitám

# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby translokace

- **translokace** – nejčastější ze strukturních aberací, předpokladem je vznik dvou zlomů, každý na jednom chromosomu

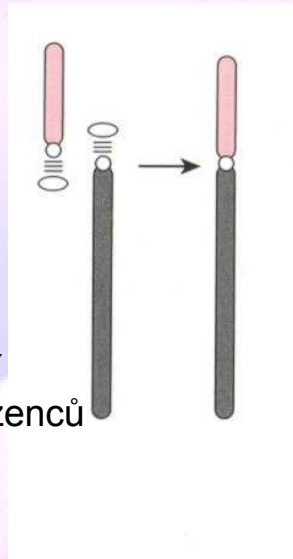


reciproké translokace se vyskytují s frekvencí přibližně 1:600 novorozenců



reciproké translokace –

výměny chromosomových segmentů mezi dvěma, zpravidla nehomologními, chromosomy

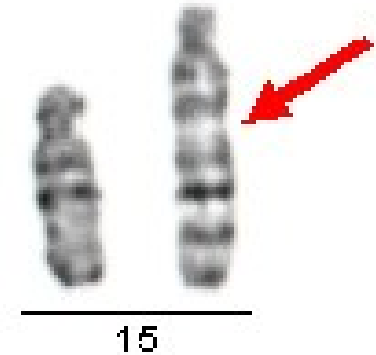
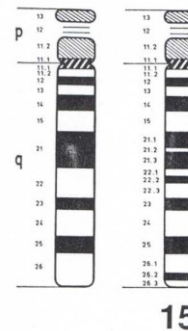
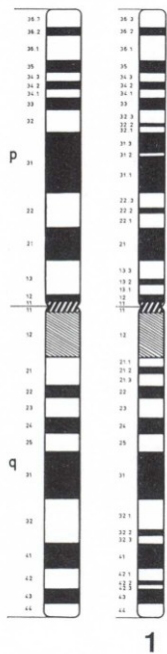


robertsonovské translokace –

2 akrocentrické chromosomy fúzíjí v oblasti centromery a ztrácejí svá krátká raménka (ztráta nemá vliv na fenotyp), vznik zlomů v oblasti centromery

# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby translokace

**reciproká translokace t(1;15)**  
výměna koncových úseků chromosomů



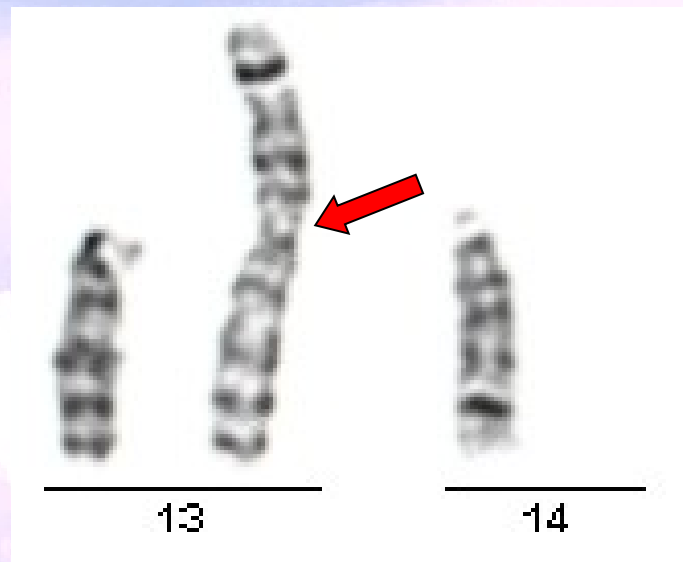
# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby reciproká translokace t(1;15)



**46,XX,t(1;15)(q12;q22)**

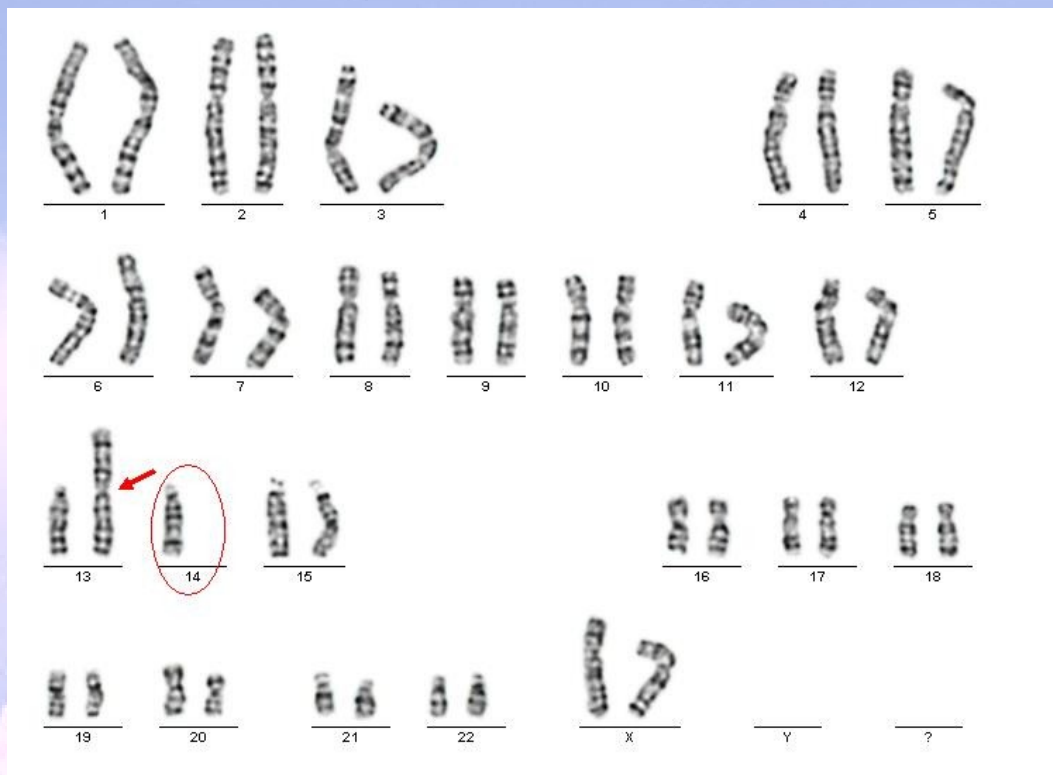
# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby translokace

**robertsonovská translokace der(13;14)**  
(derivovaný chromosom)



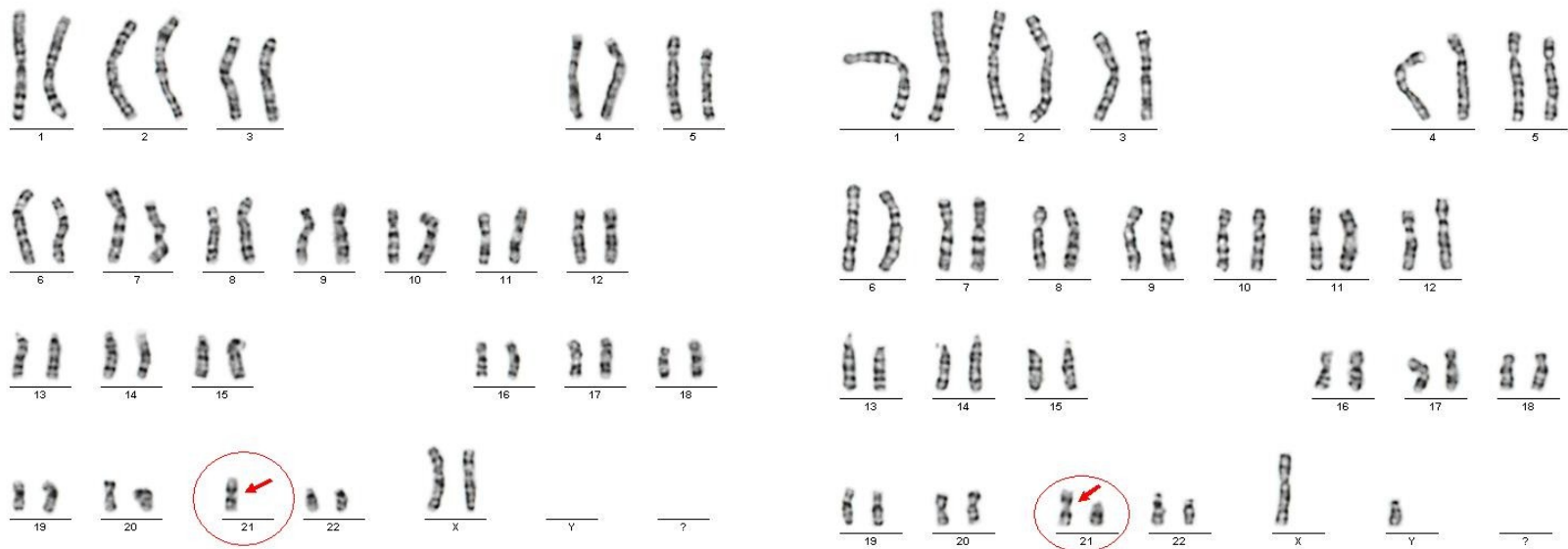


# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby robertsonovská translokace



**45,XX,der(13;14)(q10;q10)**

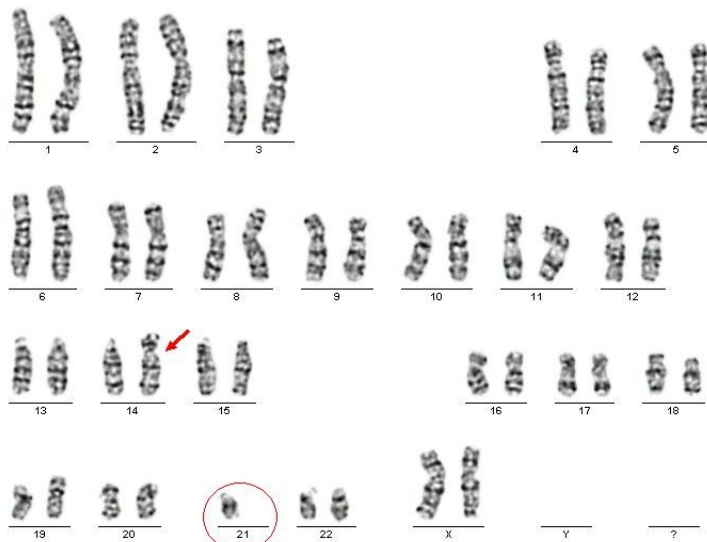
# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby translokační forma Downova syndromu



**rodič**  
**45,XX,der(21;21)(q10;q10)**

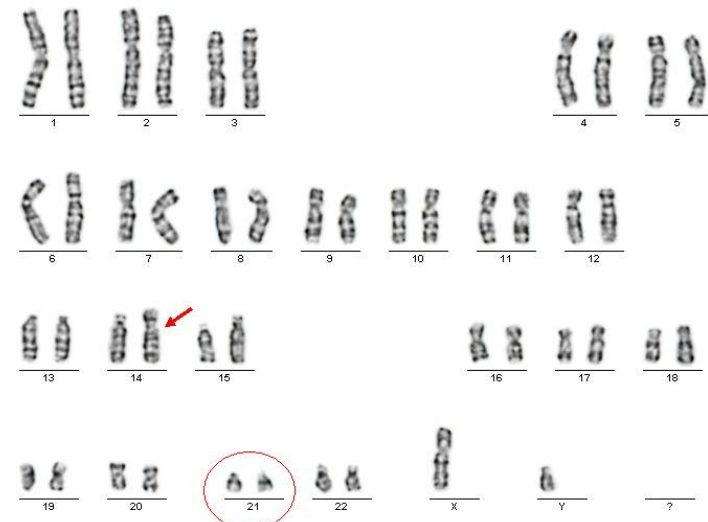
**dítě**  
**46,XY,der(21;21)(q10;q10),+21**

# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby translokační forma Downova syndromu



rodice

**45,XX,der(14;21)(q10;q10)**



dite

**46,XY,der(14;21)(q10;q10),+21**

# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby translokace

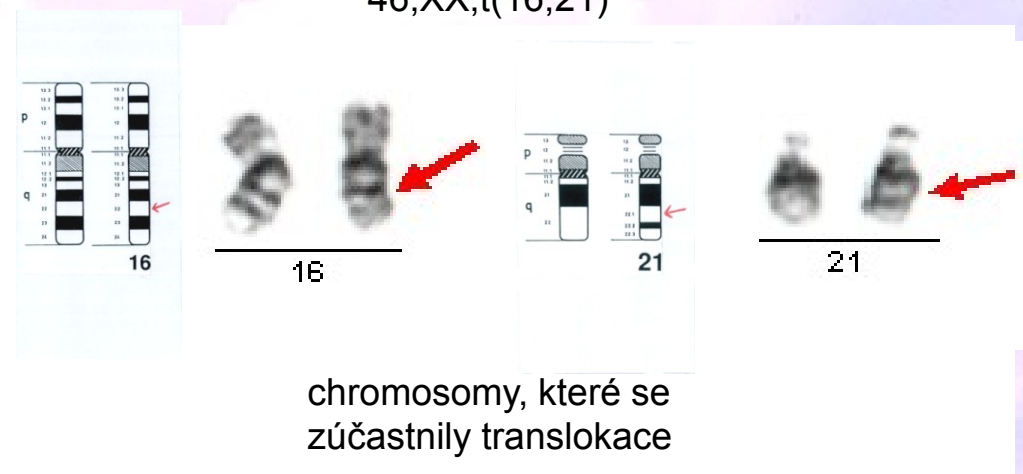
translokace u svých nositelů většinou **nezpůsobují abnormální fenotyp**, ale jsou spjaty s **vysokým rizikem vzniku nebalancovaných gamet** s tím spojených abortů nebo narození **potomků s nebalancovaným karyotypem** (parciální monosomie jednoho a parciální trisomie druhého chromosomu)

dítě s nebalancovaným  
karyotypem

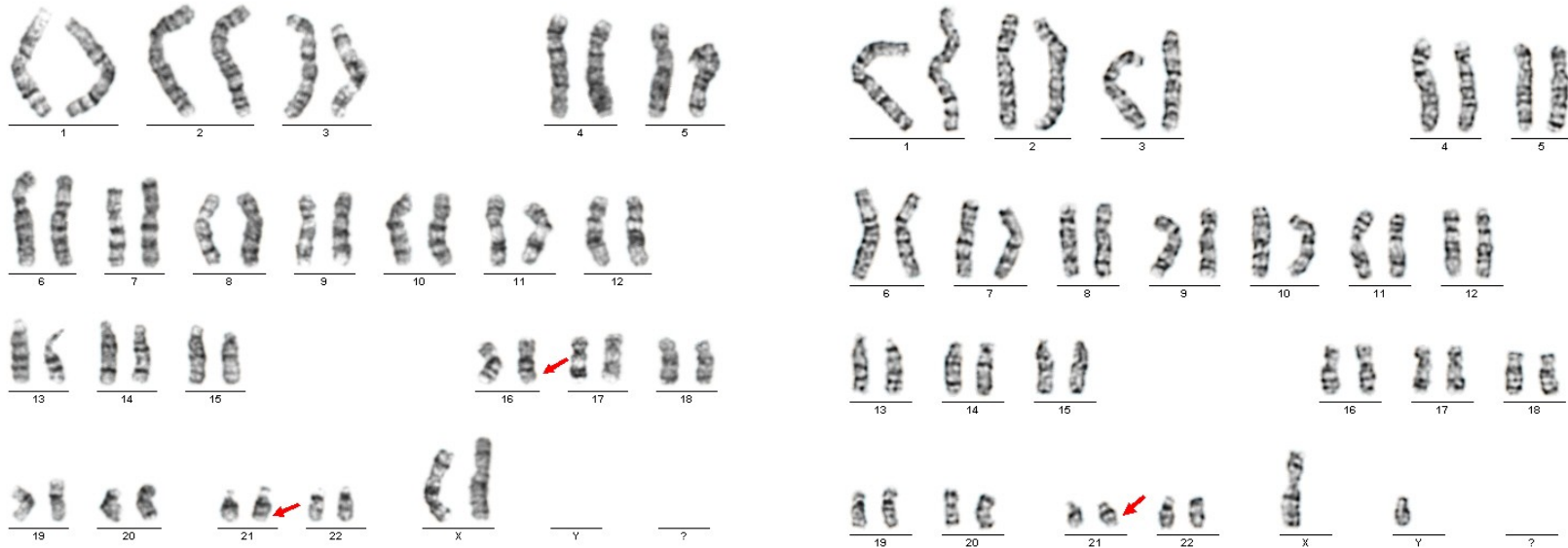
46,XY,der(21)t(16;21)mat



karyotyp matky  
46,XX,t(16;21)



# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby translokace



rodič

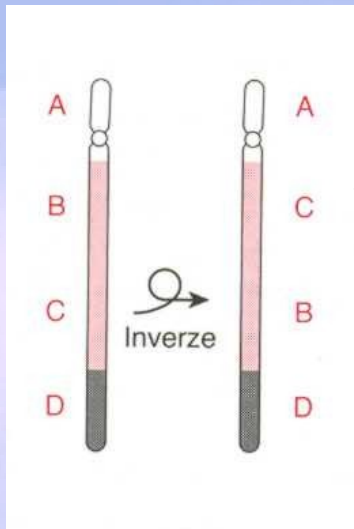
**46,XX,t(16;21)(q22;q22.1)**

dítě

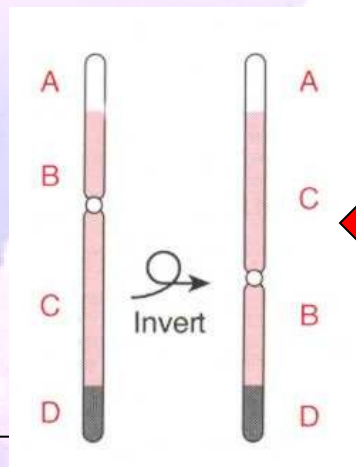
**46,XY,der(21)t(16;21)(q22;q22.1)**

# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby inverze

- **inverze** – na jednom chromosomu vzniknou 2 zlomy, segment mezi nimi se otočí o  $180^\circ$  a opět se začlení do chromosomu



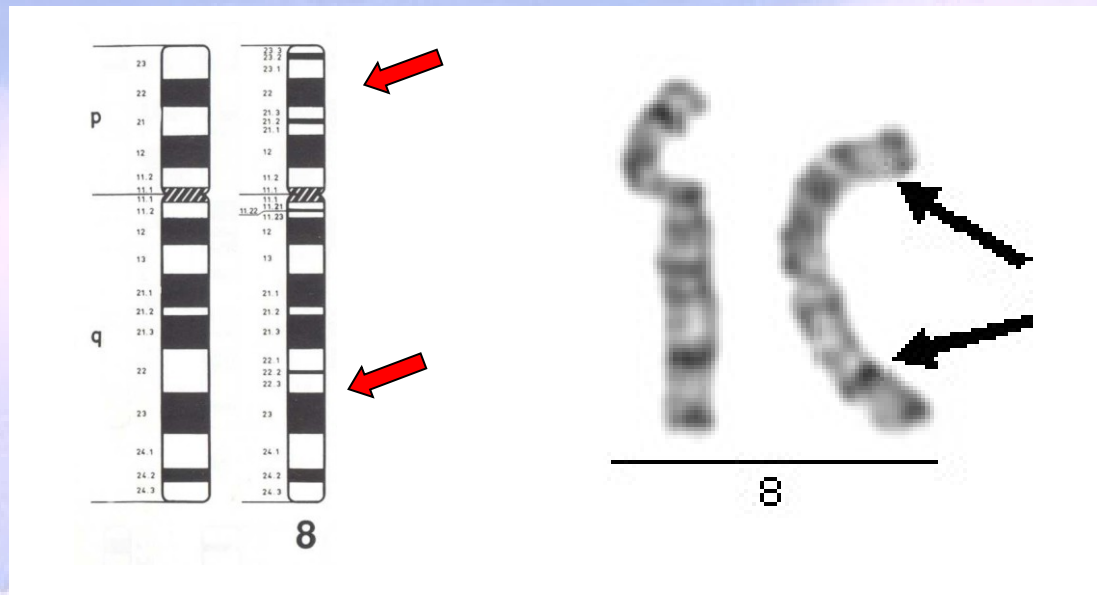
paracentrická inverze –  
oba zlomy jsou na stejném raménku,  
úsek nezahrnuje centromeru



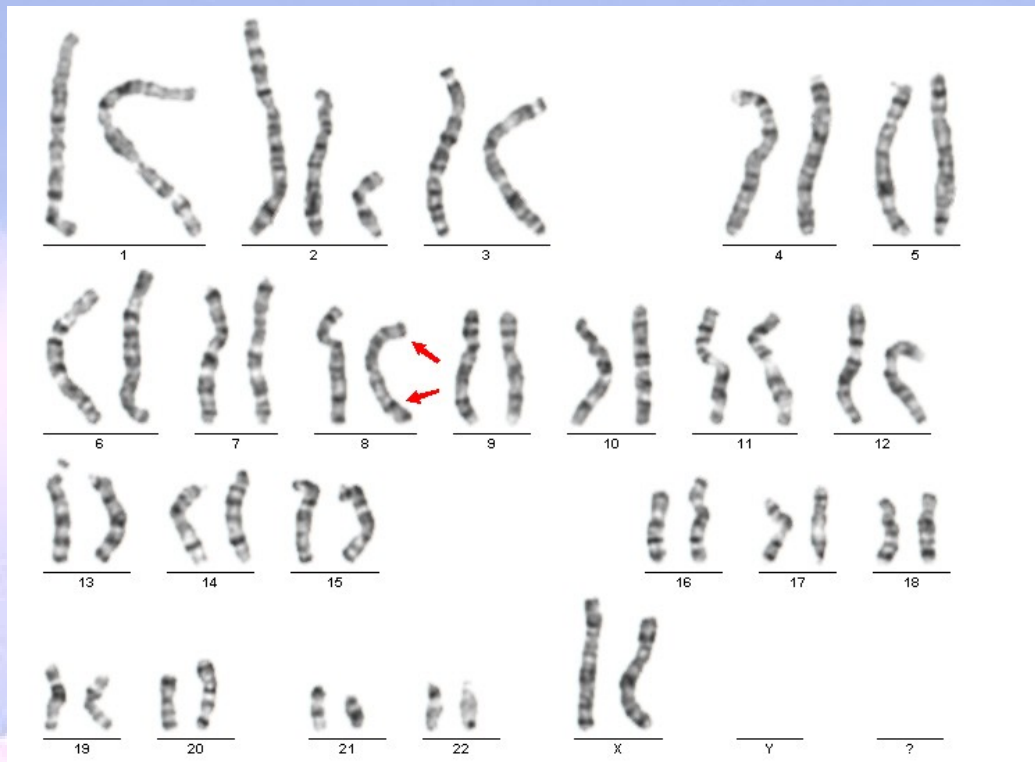
pericentrická inverze –  
na každém raménku je jeden zlom,  
invertovaný úsek zahrnuje  
centromeru

# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby inverze

## pericentrická inverze inv(8)



# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby inverze

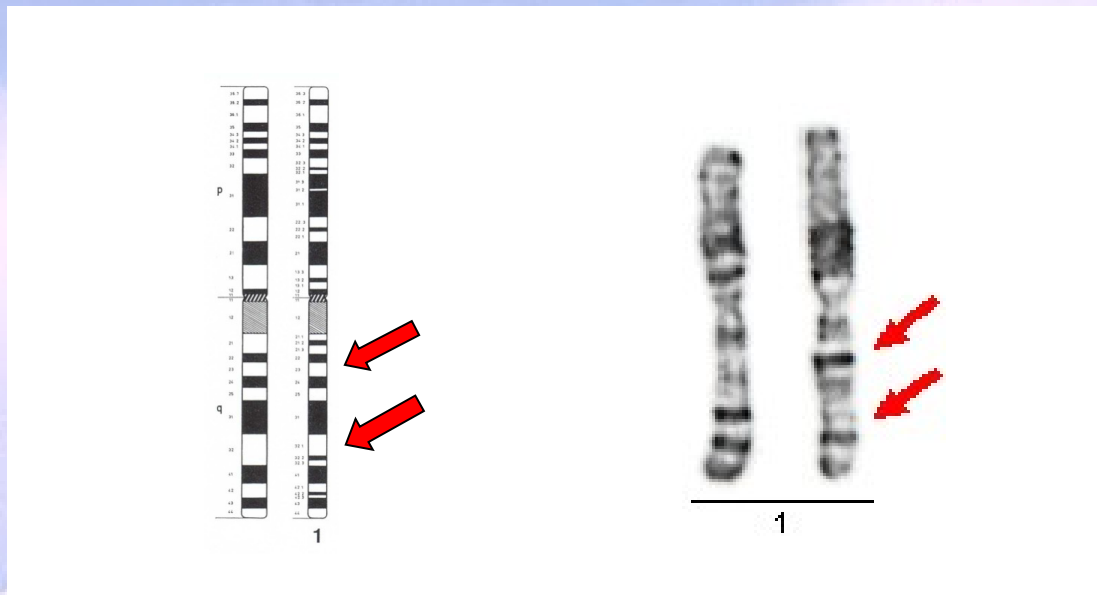


**46,XX,inv(8)(p23.1?q23?)**

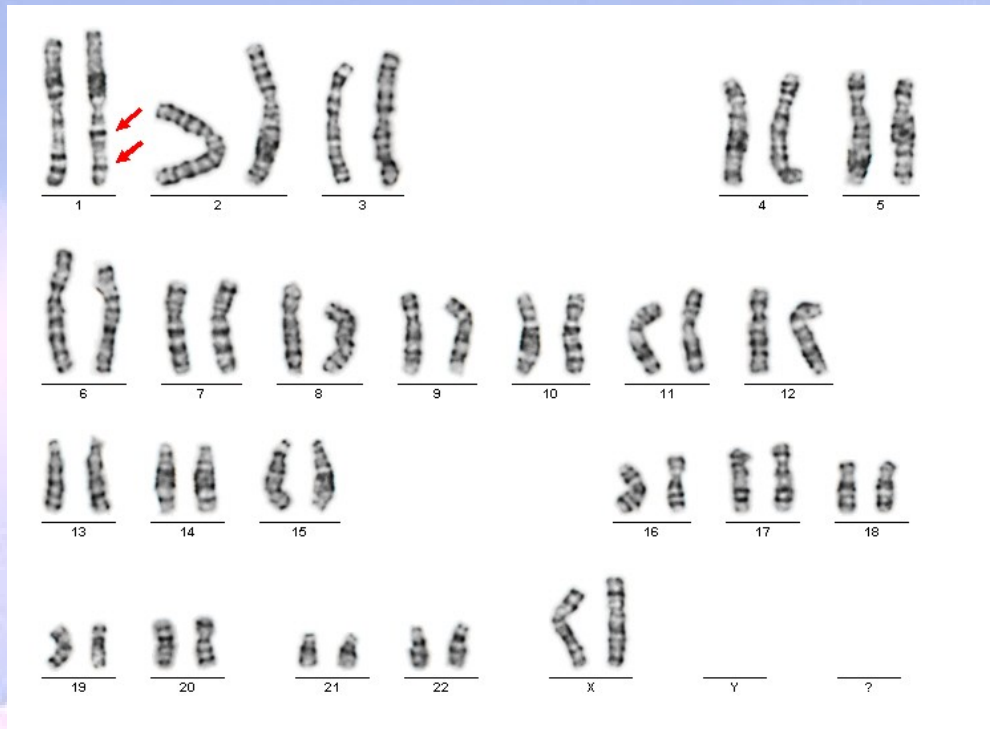


# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby inverze

## paracentrická inverze $inv(1)$



# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby inverze



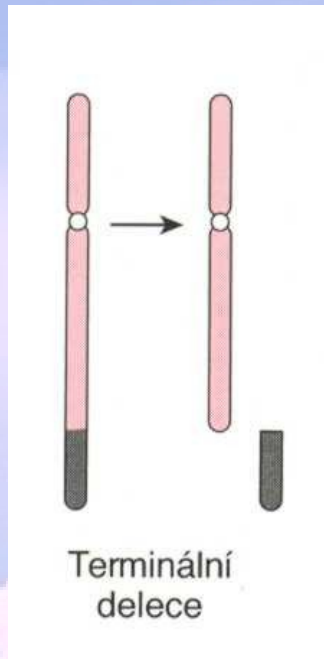
**46,XX,inv(1)(q21q32)**

# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby inverze

inverze u svých nositelů většinou nezpůsobují abnormální fenotyp, ale jsou spjaty s **rizikem vzniku nebalancovaných gamet a narození abnormálních potomků**

# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby delece

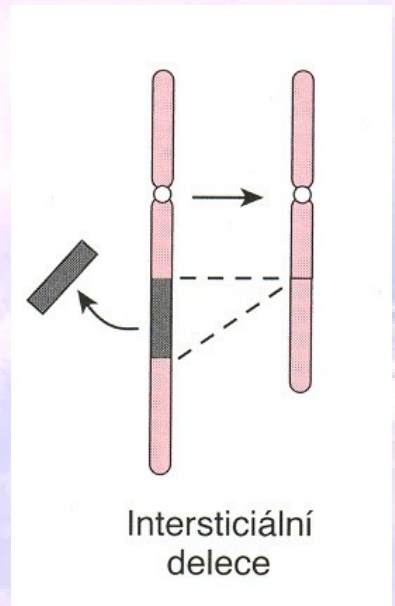
- **delece** – vznik zlomů a ztráta úseku chromosomu, který způsobuje vznik nebalancovaného karyotypu (**parciální monosomie**)



← terminální delece – vznik jednoho zlomu, ztráta koncového úseku chromosomu

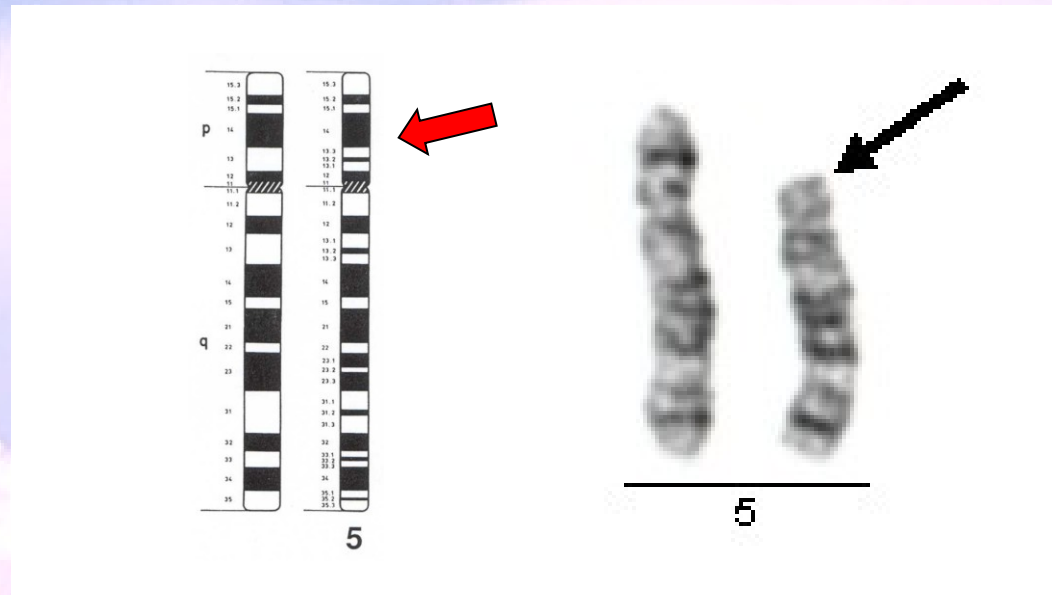
intersticiální delece – vznik dvou zlomů, ztráta segmentu uloženého mezi centromerou a terminální částí

incidence cytogeneticky pozorovatelných delecí je asi 1:700 živě narozených dětí

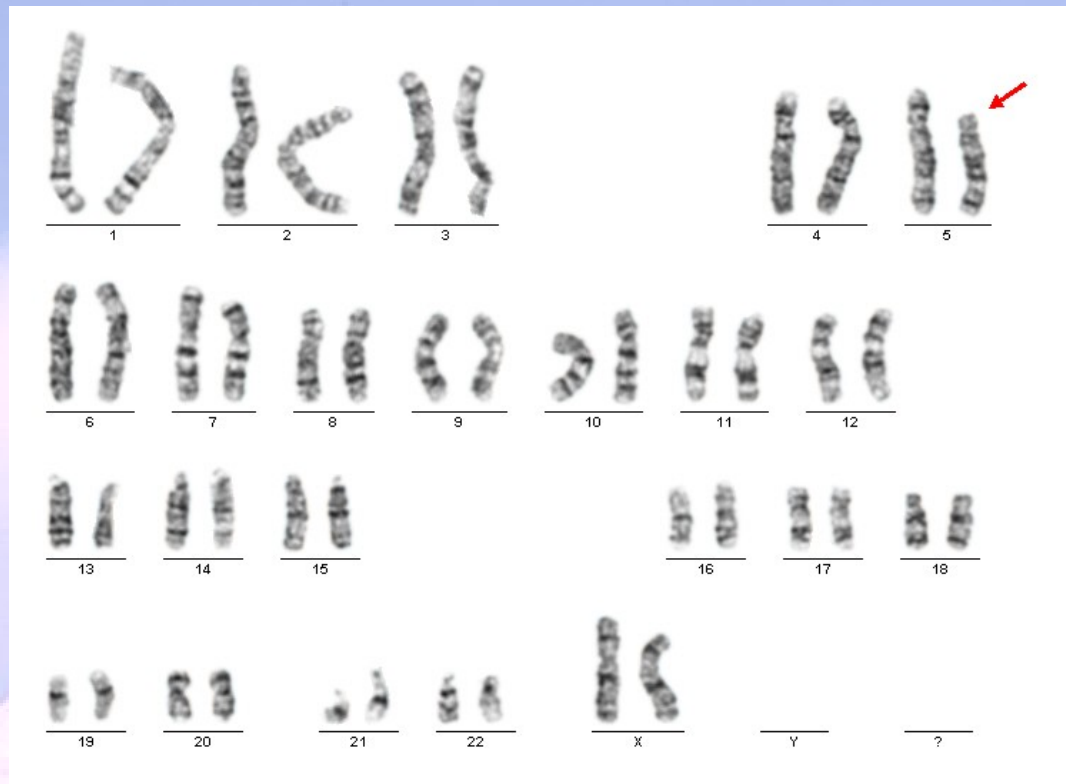


# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby delece

**terminální delece del (5p)**  
syndrom Cri du chat (syndrom kočičího křiku)

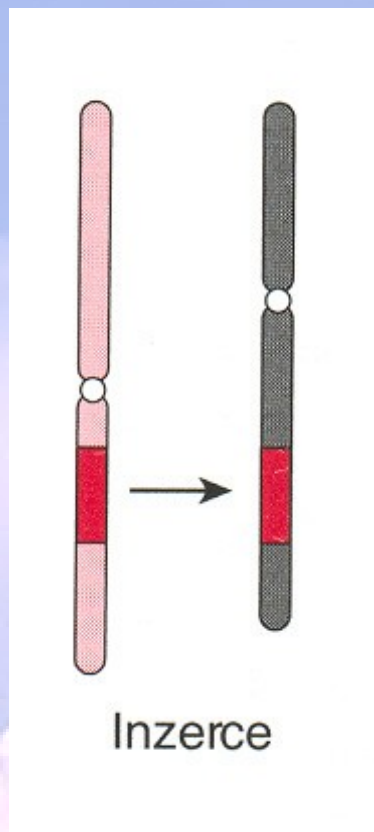


# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby delece



**46,XX,del(5p)(p14.1)**

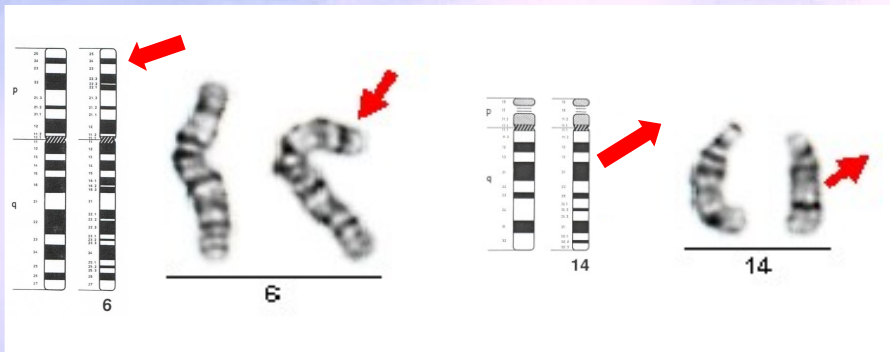
# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby inzerce



- **inzerce** – nerekiproký typ translokace
  - segment z jednoho chromosomu je odstraněn a vložen do jiného chromosomu buď ve své původní orientaci nebo opačné
  - k jejich vzniku jsou potřeba 3 body zlomu, 2 na jednom chromosomu a 1 na druhém
  - jsou poměrně vzácné (1:80000)
  - hrozí vznik nebalancovaných gamet a narození abnormálních potomků

# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby inzerce

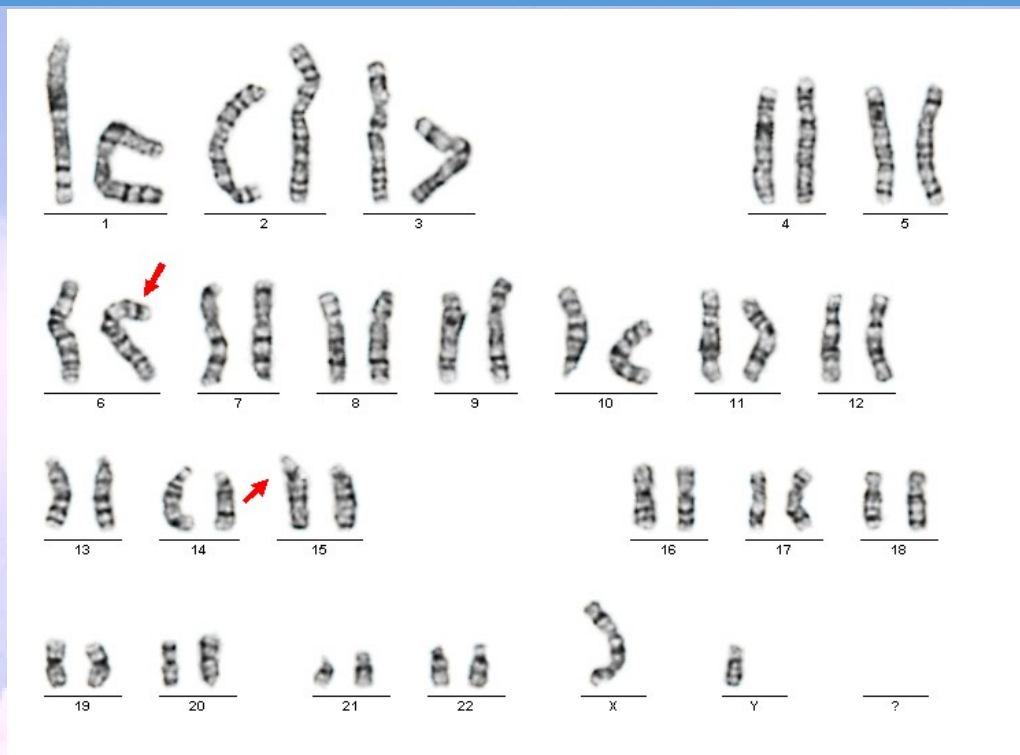
inzerce úseku chromosomu č. 14 do chromosomu č. 6  
příklad zdánlivě balancované přestavby



karyotyp probanda  
46,XY,ins (6;14), de novo



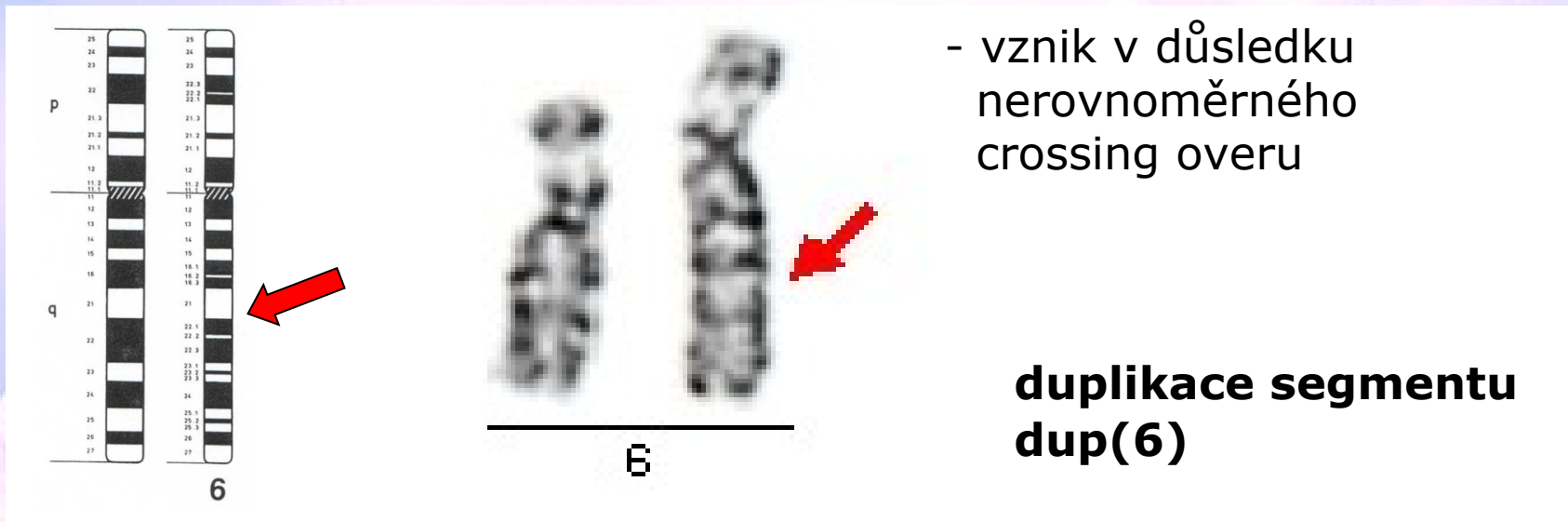
# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby inzerce



**46,XY,ins(6;14)(p24;q13q22)**

# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby duplikace

- **duplikace** – nadbytečný chromosomový segment, který způsobuje vznik nebalancovaného karyotypu (**parciální trisomie**)
  - bývají méně nebezpečné než delece



# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby duplikace



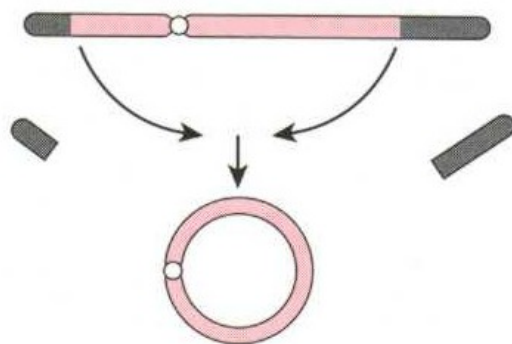
**46,XX,dup(6)(q22q23)**

# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby neobvyklé typy chromosomů

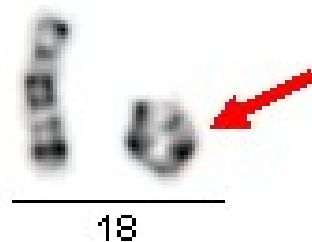
## marker chromosomy

- malé chromosomy (s centromerou), často v mozaice, obtížně identifikovatelné (mohou být vrozené nebo kultivačního původu)

marker chromosomy představují nadbytečný genetický materiál v karyotypu



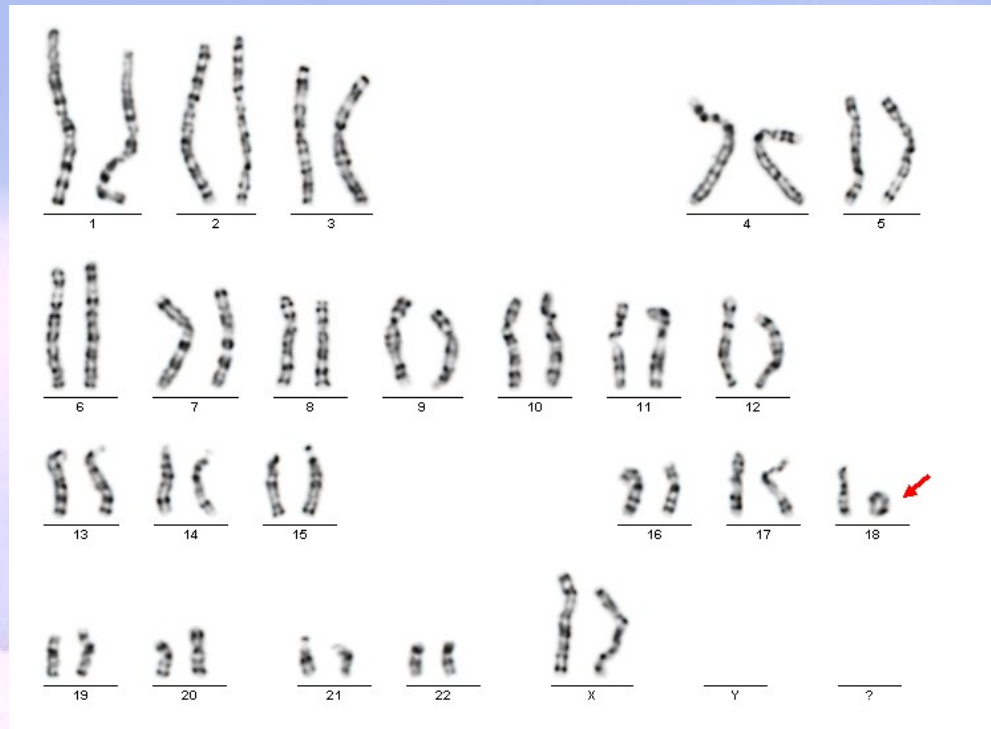
Kruhový  
chromozom



## kruhové chromosomy (ring chromosomy)

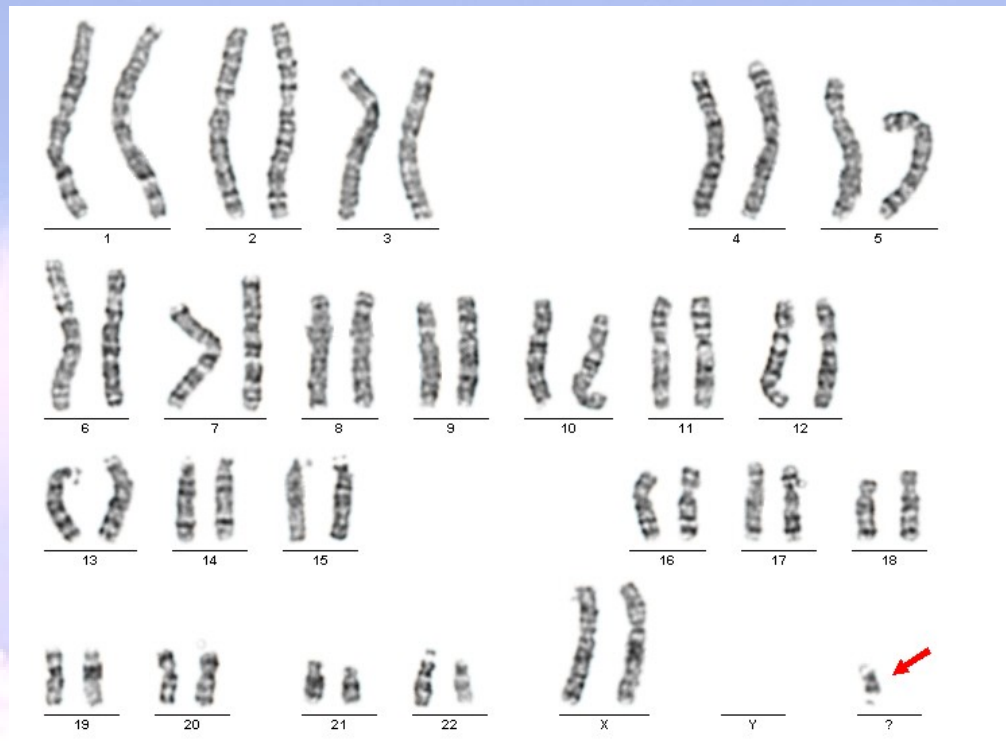
- na obou koncích chromosomu vzniknou zlomy, dojde ke ztrátě koncových úseků, zbytek chromosomu se spojí
- jsou poměrně vzácné, ale byly zjištěny u všech lidských chromosomů

# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby ring chromosom



**46,XX,r(18)**

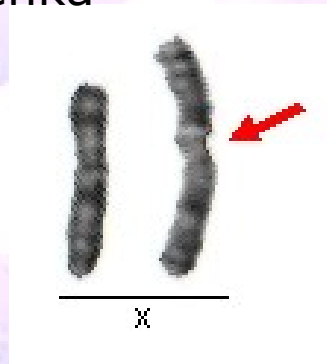
# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby marker chromosom



**47,XX,+mar**

# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby neobvyklé typy chromosomů

- **izochromosomy** – metacentrické chromosomy, jejichž 1 raménko chybí a druhé je duplikováno (parciální monosomie 1 raménka a parciální trisomie 2. raménka)



podstata tvorby izochromosomu není přesně známa, jsou popsány alespoň 2 mechanismy:

- porucha dělení centromery (příčné), následné dosyntetizování celého raménka v S fázi buněčného cyklu

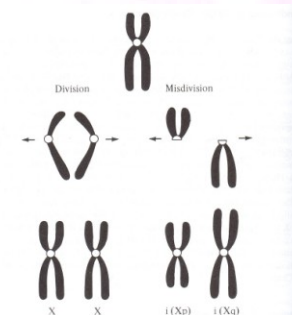
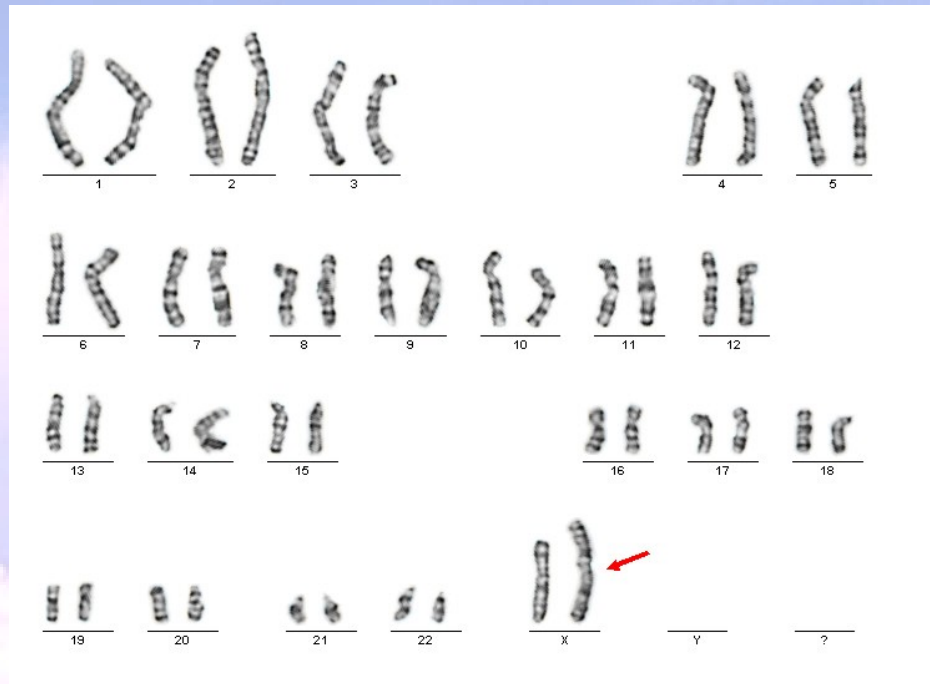


Figure 19.2. Misdvision of the human X chromosome resulting in the formation of a long-arm isochromosome  $i(Xq)$  and a short-arm isochromosome  $i(Xp)$  (presumably inviable).

- výměna celého raménka

# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby izochromosom

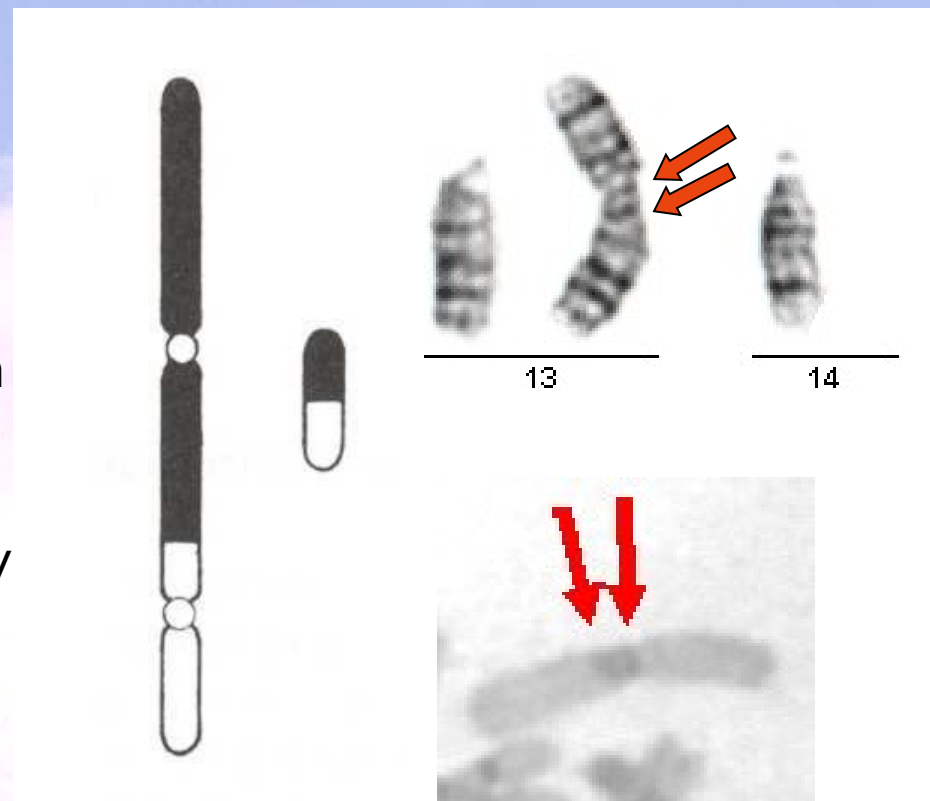


**46,X,idic(Xq)**



# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby neobvyklé typy chromosomů

- **dicentrické chromosomy**
  - na dvou chromosomech dojde ke zlomu
  - vznikne dicentrický chromosom fúzí úseků s centromerou a acentrický fragment spojením úseků bez centromery



„C“ barvením prokázána přítomnost 2 centromer

# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) strukturní přestavby dicentrický chromosom



**46,XY,dic(13;14)(q11;q11)**

# ZÁPIS KARYOTYPU

## Příklady patologických karyotypů:

47,XX,+18 → nadbytečný autosom v jádrech buněk (početní změna)

45,X 47,XXY → chybějící nebo nadbytečný gonosom v karyotypu (početní změna)

46,XX,t(8;21)(p11.2;q22.3) → translokace v karyotypu (strukturní změna), ve druhé závorce zápis bodů zlomů na chromosomových raméncích podle cytogenetické nomenklatury

45,X[12] / 46,XX[188] → mozaika gonosomů – více (minimálně dvě) buněčné linie v karyotypu

# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) MOZAICISMUS

- má – li osoba chromosomovou abnormalitu, bývá většinou aberace přítomna ve všech jejích buňkách
- mozaicismus = v těle jedince jsou přítomny 2 nebo více linie buněk s odlišnou chromosomovou konstitucí
  - nejčastější výskyt mozaiky gonosomů  
45,X[6]/47,XXX[4]/46,XX[190]
  - zřídka mozaika autosomů
    - např. linie s normálním karyotypem s linií s monosomií chromosomu č.18 45,XX,-18[10]/46,XX[190]
    - mozaika linie s normálním karyotypem s linií s Downovým syndromem 46,XY[28]/47,XY,+21[172]
- ve formě mozaiky mohou být přítomny numerické aberace i strukturní přestavby, početní se vyskytují častěji
- nejčastější příčinou mozaicismu je **nondisjunkce v časném postzygotickém mitotickém dělení** (např. ztráta chromosomu č.21 z buňky zygoty s trisomií tohoto chromosomu)



# VROZENÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (VCA) MOZAICISMUS

- je obtížné posoudit význam nálezu mozaiky
  - záleží na typu chromosomové abnormality
  - význam má % zastoupení linie s patologickým karyotypem
  - mozaika může být zastoupena v různých tkáních v různé míře
- riziko vzniku pseudomozaiky kultivačního původu (zejména prenatální diagnostika), potíže při interpretaci



# Klinické indikace k postnatálnímu stanovení karyotypu (VCA)

- **problémy časného růstu a vývoje**  
neprospívání, opoždění vývoje, dysmorfická facies, mnohočetné malformace, malá postava, obojetný genitál, mentální retardace
- **narození mrtvého plodu a úmrtí novorozence**  
výskyt chromosomových abnormalit je vyšší u případů narození mrtvého plodu (téměř 10%) než u živě narozených dětí (asi 0,7%), zvýšený výskyt také u dětí, které umírají v novorozeneckém období (okolo 10%)
- **problémy s fertilitou**  
ženy s amenoreou, infertilní páry, opakované spontánní aborty, partneři před IVF
- **rodinná anamnéza**  
známá nebo suspektní chromosomová abnormalita u příbuzných
- **dárci gamet, děti k adopci**



# Klinické indikace k prenatálnímu stanovení karyotypu (VCA)

Invazivní metody vyšetření karyotypu plodu – při vyšším riziku narození dítěte s VCA

- věk matky – 35 let v roce porodu, pod 18 let
- věk otce – nad 40 let (riziko vyššího výskytu monogenních chorob)
- součet věku rodičů – nad 70 let
- patologické hodnoty biochemických markerů (screening II., event. I. trimestru)
- VVV nalezené na UZ
- balancovaná VCA u rodičů
- výskyt VCA v rodině
- předchozí porod dítěte s VCA



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



# Prenatální stanovení karyotypu (VCA)

## Nenvazivní metody vyšetření karyotypu plodu:

- UZ screening – 13.t.g.(VVV, VSV), 20.t.g. (VVV, VSV)!!!!, 32.-34.t.g.
- Biochemické vyšetření v I. trimestru - 8.-12.t.g.
- Biochemický screening ve II. trimestru - 15.- 17.t.g.

## Invazivní metody vyšetření karyotypu plodu:

- Odběr plodové vody (amniocentéza, AMC) – klasická 16.-18-t.g.
  - časná 12.-14.t.g.
- Odběr krve plodu z pupečníku (kordocentéza, CC) – po 20. t.g.
- Biopsie choriových klků (CVS) – časná CVS – 10. – 12. t.g.
  - pozdní CVS – II. a III. trimestr (placentocentéza)





# Prenatální stanovení karyotypu (VCA)

AMC – kultivace 2 paralelních kultur – vyloučení kultivačního artefaktu (pseudomozaika – např. přítomnost nadbytečného chromosomu nebo strukturní přestavby v 1 mitóze) – vyloučení - opakovaný odběr (AMC, CVS)

- riziko kontaminace mateřskou krví při odběru (může ovlivnit výsledek karyotypu plodu)

CVS – choriové klky (placenta) = extraembryonální tkáň – častý výskyt mozaikových karyotypů (mitotická nondisjunkce) – diskrepance v nálezech u embrya a extraembryonální tkáni (embryo má kontrolní mechanismy limitující dělení abnormálních buněk, v choriu se abnormální buňky dělí)



# Prenatální stanovení karyotypu (VCA)

- CVS – diskrepance v karyotypu embrya a extraembryonální tkáně
- vznik mozaiky v blastocystě před diferenciací na embryo a extraembryonální tkáň – mozaika přítomna v obou
  - vznik mozaiky v pozdějším stádiu v embryu nebo v extraembryonální tkáni (častěji) – mozaika přítomna jen tam, kde vznikla

Placentární mozaicismus – zdroj falešně pozitivních výsledků

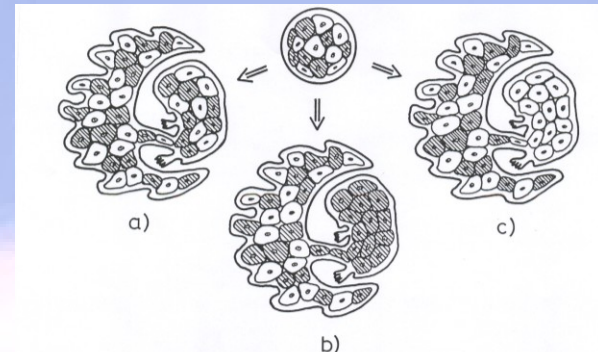
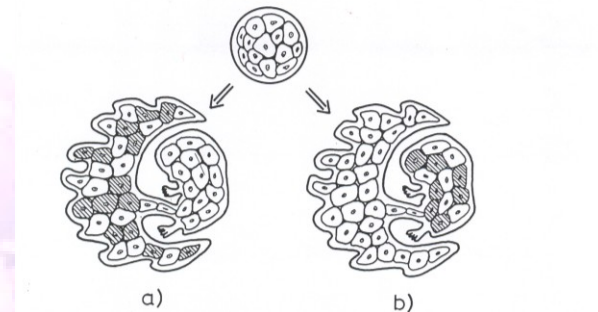


Fig. 1. Diagrammatic representation of the development of a mosaic morula resulting in a conceptus with chromosomal mosaicism involving both the chorion and the embryo; b, c conceptus with a nonmosaic embryo and mosaicism confined to the chorion



# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE

(vliv mutagenních faktorů prostředí)

## Stanovení % aberantních buněk – buněk s poškozeným chromosomem

### Přítomnost aberací v somatických buňkách

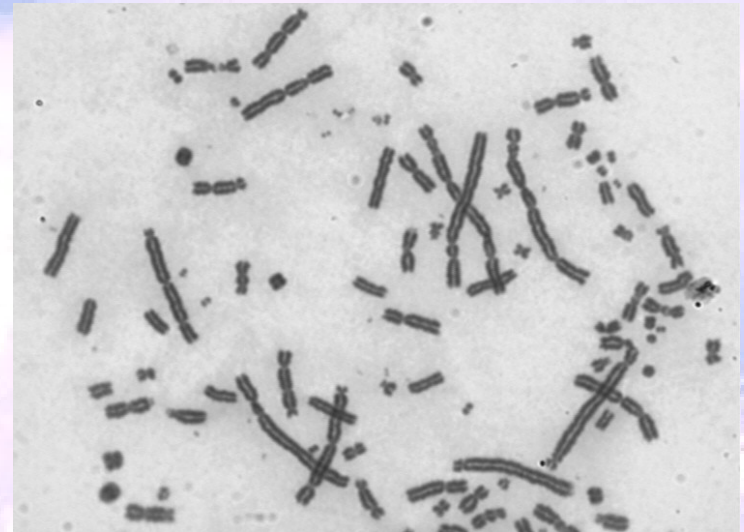
- rychlejší stárnutí organismu
- vznik degenerativních onemocnění
- možné maligní zvrhnutí

### Přítomnost aberací v gametách

- zvýšené riziko narození postiženého dítěte

### Konvenční barvení chromosomů

hraniční patologie – opakovaný nález 5% aberantních buněk



# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA) příčiny vzniku

působení - **fyzikálních faktorů**

(ionizující záření)

- **chemických látek**

(cytostatika, imunosupresiva, oxidační,  
alkylační činidla ad. látky používané  
v průmyslu)

- **biologických faktorů**

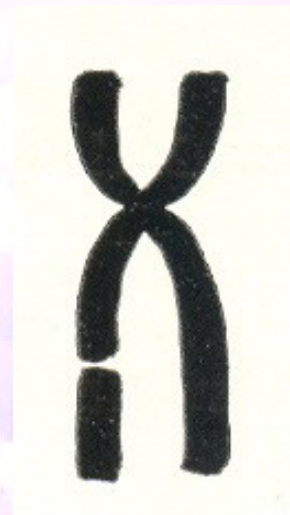
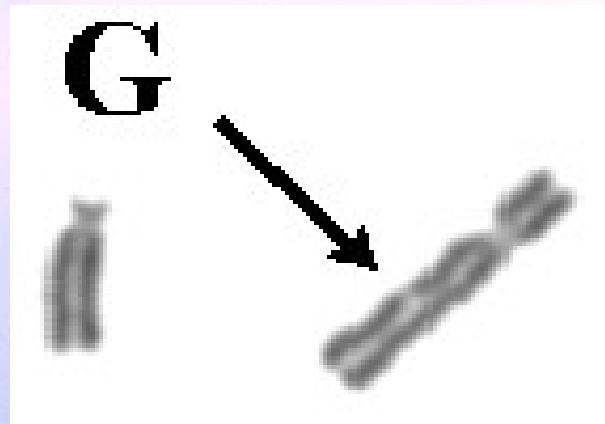
(virové infekce – pravé neštovice, spalničky,  
zarděnky ad.)



# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA)- typ poškození – chromatidové aberace označení cht

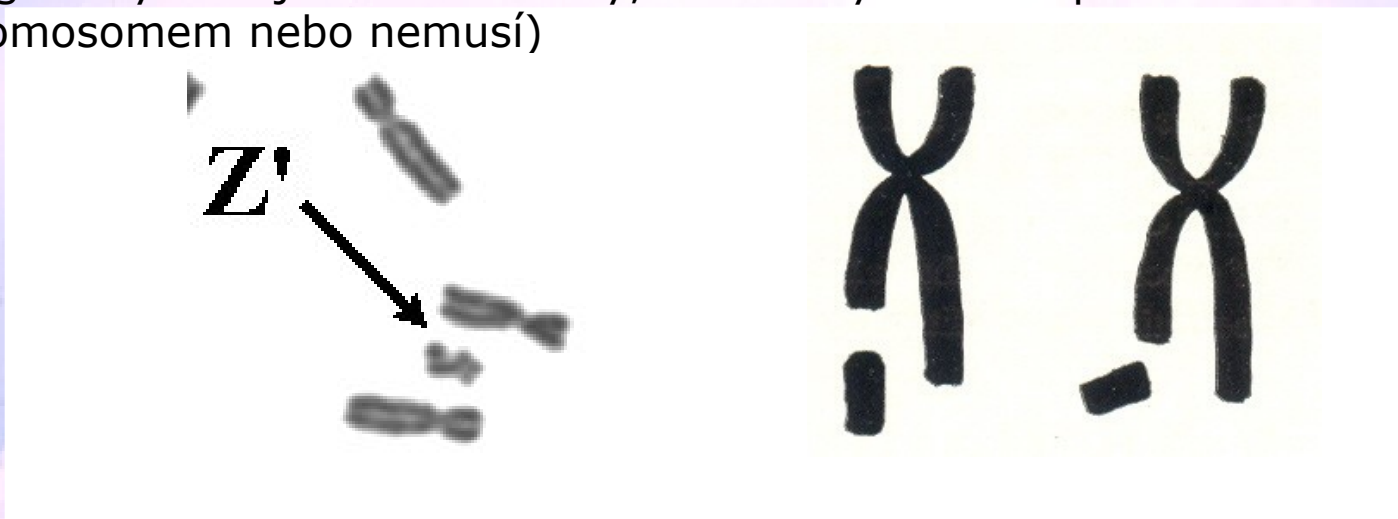
- **jednochromatidové gapy** (mezery)

**(G´ nebo chtg – chromatid gap)** – příčně slabě se barvící část chromatidy (achromatické léze), také úplné přerušení chromatidy nepřesahující její šířku



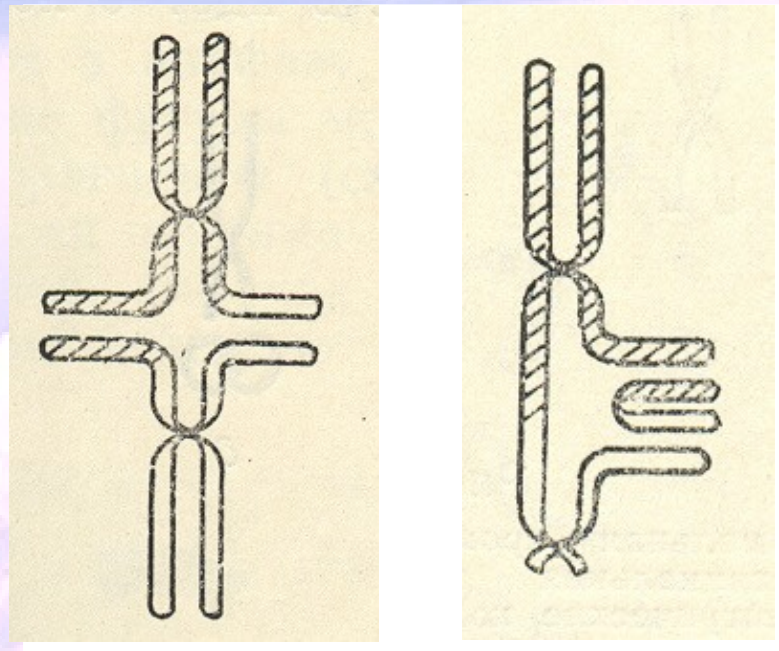
# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA)- typ poškození – chromatidové aberace označení cht

- **jednochromatidové zlomy (Z' nebo chtb - chromatid brake), oddělení samostatného fragmentu**  
**(F)** – úplné přerušení chromatidy, pravděpodobně koncová delece (fragменты мívají různé rozměry, mohou být v ose s původním chromosomem nebo nemusí)

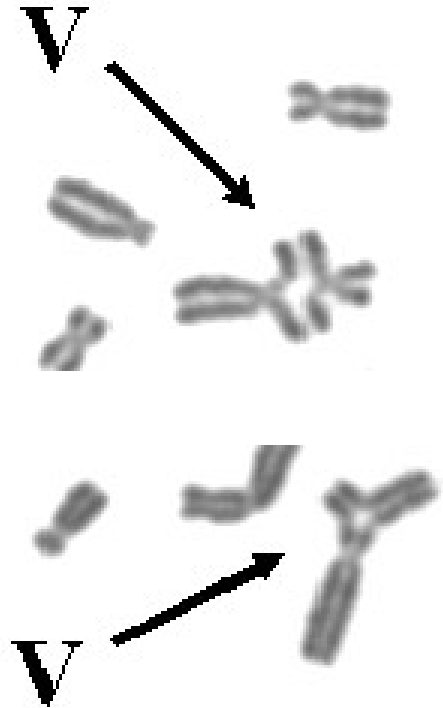
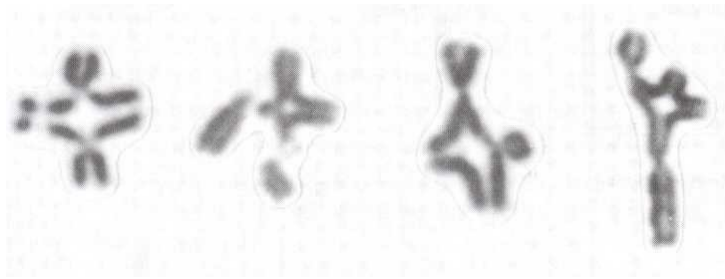


# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA)- typ poškození – chromatidové aberace označení cht

- **výměny (V nebo chte – chromatid exchange)** – výměny části chromatid v rámci jednoho nebo více chromosomů



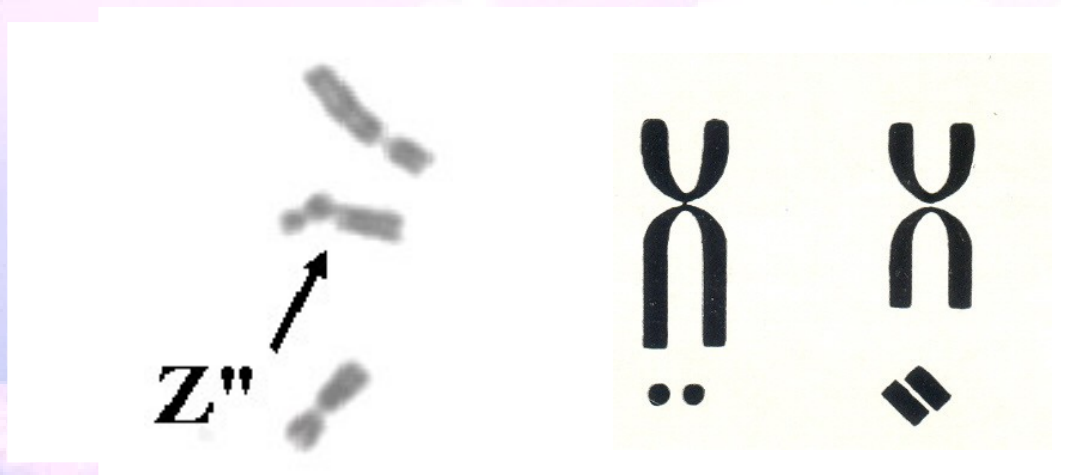
# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA)- typ poškození – chromatidové aberace - výměny





# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA)- typ poškození – chromosomové aberace označení chr

- **dvouchromatidové zlomy (Z'' nebo chrb – chromosome break), oddělení párových fragmentů (DF)**- úplné přerušení obou chromatid, pravděpodobně koncová delece (fragment obvykle leží paralelně, mívají různé rozměry, mohou být v ose s původním chromosomem nebo nemusí)



# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA)-

## typ poškození – chromosomové aberace označení chr

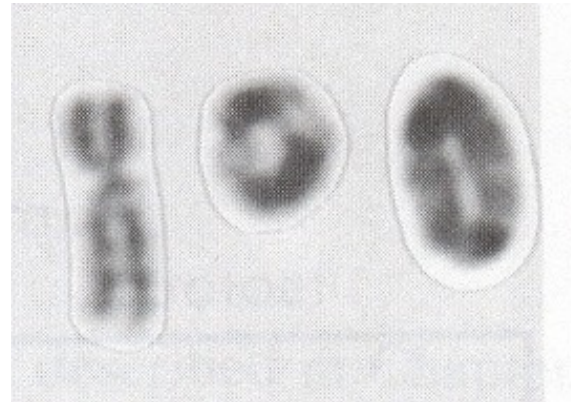
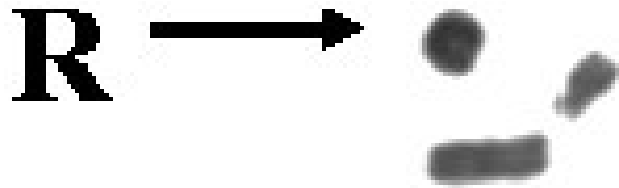
- **izochromatidové gapy (mezery) ( $G''$  nebo  $chr_g$  – chromosome gap)** – příčně slabě se barvící část chromosomu (achromatické léze), také úplné přerušení chromosomu nepřesahující šířku chromatidy



# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA)-

## typ poškození – chromosomové aberace označení chr

- **acentrické ringy, kruhové chromosomy-**  
uzavřené struktury, vznik dvou zlomů na jednom chromosomu, dojde ke spojení – acentrické ringy jsou bez centromery, kruhové chromosomy zahrnují centromeru

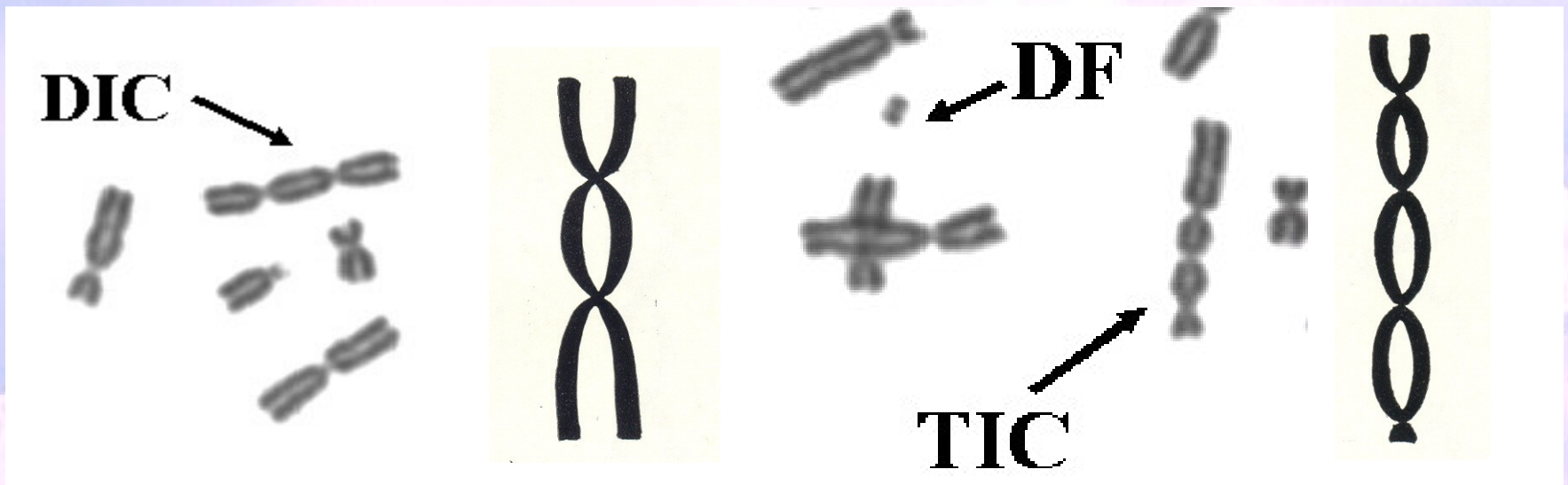


r



# ZÍSKANÉ CHROMOSOMOVÉ ABERACE (ZCA)- typ poškození – chromosomové aberace označení chr

- chromosomy zahrnující více než 1 centromeru-  
dicentrické, tricentrické chromosomy...



# Klinické indikace k vyšetření ZCA

- práce v riziku (kontakt se škodlivými látkami, zářením), vstupní prohlídky na pracovištích se zvýšeným rizikem
- před chemoterapií, po chemoterapii, po jiné dlouhodobé léčbě
- kontrolní vyšetření u podchycených případů



# Doporučená literatura

- Klinická genetika, Thompson 2001
- Základy klinickéj genetiky, Sršeň, Sršňová 1995
- Základy lékařské genetiky, Pritchard, Korf 2003
- Vybrané kapitoly z cytogenetiky, Kuglík 2005



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



**Děkuji za pozornost**

